

STABILE OXAPENEME

Wolfram Hendel

Disbui. München

1987



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554624_0005

STABILE OXAPENEME

Dissertation
der Fakultät für Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von
Wolfram Hendel
aus München
1987

1. Berichterstatter : Prof. Dr. H. R. Pfaendler

2. Berichterstatter : Prof. Dr. R. Gompper

Tag der mündlichen Prüfung : 21.10.1987

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung und unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. H. R. Pfaendler

im Institut für Organische Chemie der Universität München in der Zeit von Februar 1983 bis Juni 1987 durchgeführt. Meinem verehrten Doktorvater danke ich herzlich für die Unterstützung bei der Durchführung und Niederschrift dieser Arbeit, für zahlreiche anregende Diskussionen und das mir entgegengebrachte Vertrauen.

Ein aufrichtiges Dankeschön möchte ich an Herrn H. Huber für seine stete freundliche Hilfsbereitschaft und die Mitarbeiterinnen des physikalischen Labors für die rasche und zuverlässige Anfertigung der Spektren richten.

Ferner danke ich Frau M. Schwarz und Herrn H. Schulz für die Anfertigung der Elementaranalysen.

Mein besonderer Dank gilt auch den Leitern der analytischen Labors der Chemischen Institute der TU in Garching und des Pharmazeutischen Instituts der Universität, die sich freundlicherweise zur Durchführung einiger Elementaranalysen bereit erklärten.

Herrn Dr. U. Nagel und Herrn M. Steinmann vom Institut für Anorganische Chemie der Universität München bin ich zu großem Dank verpflichtet für die Durchführung der Röntgenstrukturanalysen.

Den Herren Dr. Schübel und Dr. Jendrzejewski vom Pharmazeutischen Institut schulde ich Dank für die Aufnahmen von 360 MHz - ^1H -NMR-Spektren.

An dieser Stelle sei auch den Forschungspraktikanten C. Setti, J. Kaufmann, A. Höß, T. Kirsch und R. Bartsch für ihre hilfreiche Mitarbeit gedankt.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei Fräulein S. Klar für die Durchführung der bakteriologischen Tests und allen anderen Mitgliedern des Arbeitskreises für die vertrauensvolle Zusammenarbeit und die ständige Bereitschaft zu hilfreicher Diskussion sehr herzlich bedanken.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
<u>1. Einleitung</u>	1
1.1. Entwicklung und Bedeutung der β -Lactam-Antibiotika	1
1.2. Wirkungsweise der β -Lactam-Antibiotika	3
1.3. Struktur, Reaktivität und biologische Aktivität von β -Lactamen	7
1.4. Resistenzbildung und β -Lactamase-Hemmung ...	9
<u>2. Die Entdeckung bicyclischer β-Lactame, die einen O-Heterocyclus enthalten</u>	12
2.1. Die Clavulansäure und ihre Eigenschaften ...	12
2.2. Das Zielmolekül - Isomeres der Clavulansäure	14
2.3. Nomenklatur der neuen Verbindungsklasse	15
2.4. Erwartungen an die Stabilität der Oxapeneme	15
2.5. Methoden zur Darstellung von Oxapenemen	18
2.6. Biologische Aktivität bekannter Oxapeneme ..	20
2.7. Instabile Oxapeneme !	20
<u>3. Strukturplanung neuer Oxapeneme</u>	21
3.1. Die Notwendigkeit ausreichender Stabilität .	22
3.2. Die Peneme als Vorbild ?	24

	Seite
3.2.1. Der Einfluß von Substituenten am C-6	25
3.2.2. Der Einfluß von Substituenten am C-3	27
3.3. Übertragbarkeit auf analoge Bicyclen ?	27
3.4. Die Wahl der Zielverbindung	28
<u>4. Wege zu 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbon-</u> <u>säuren</u>	29
4.1. Der erste Vertreter - der 3,6,6-Trimethyl- 7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en- 2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 a)	31
4.1.1. Die Darstellung des Enols	31
4.1.2. Die Cyclisierung des Enols	35
4.1.2.1. Das klassische Verfahren - Synthese des Oxa- penems über die 4-Chloroazetidin-2-one	35
4.1.2.2. Ringschluß unter Vermeidung labiler Chlori- de ?	37
4.1.2.3. Eine alte Methode für neue Oxapeneme - die Cyclisierung mit HgO und HgCl ₂	40
4.1.3. Das Natriumsalz der 3,6,6-Trimethyl-7-oxo- 4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbon- säure und seine Hydrolyse	42
4.1.4. pH-Abhängigkeit der Hydrolyse von <u>31 a</u>	44
4.2. Synthesen stabilerer Oxapeneme	46
4.2.1. Sind elektronenziehende Gruppen die Lösung ?	46

4.2.2.	Die Einführung von Alkylgruppen am C-3 des Bicyclus	48
4.2.2.1.	Synthesen alkylsubstituierter Oxapenemcar- bonsäureester	48
4.2.2.2.	Die Hydrolyse der Natriumsalze	51
4.3.	Ursachen der Stabilitätserhöhung - sterisch oder induktiv ?	53
4.3.1.	Der induktive Effekt	53
4.3.2.	Röntgenstrukturanalysen	55
4.3.2.1.	Die höchste Pyramide - Ursache der Labilität von Oxapenemen	55
4.3.2.2.	Methyl- oder t-Butyl- : Worin besteht der Unterschied ?	63
4.3.3.	Der Einfluß von Gruppen mit großem -I - Ef- fekt im Alkylrest - Synthese des Natriumsal- zes der 3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6- dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]- hept-2-en-2-carbonsäure	65
4.4.	Weitere Versuche	68
4.5.	Untersuchungen der biologischen Aktivität verschiedener 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuresalze	69
4.5.1.	Antibakterielle Aktivität	70
4.5.2.	β -Lactamase-Hemmung	73
4.6.	Zusammenfassung und Folgerungen	75

5. Wege zu stabilen 6-methylsubstituierten und un-	
substituierten Oxapenemcarbonsäuren ?	76
5.1. Synthese zweier 6-methylsubstituierter Oxa-	
peneme	76
5.1.1. Die Darstellung der gemeinsamen Vorstufe ...	76
5.1.2. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6-methyl-7-oxo-4-oxa-	
1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-	
p-nitrobenzylester als Modellverbindung	79
5.1.3. Die Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-	
6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]	
hept-2-en-2-carbonsäure	81
5.1.3.1. Darstellung der Keton-Vorstufe und ihre Cyc-	
lisierung zum Oxapenemcarbonsäureester	82
5.1.3.2. Hydrogenolyse von <u>48</u> und Hydrolyse des	
Natriumsalzes	84
5.2. Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-	
7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-	
2-carbonsäure	85
5.2.1. Darstellung des Ketons und Cyclisierung zum	
Oxapenemcarbonsäureester	86
5.2.2. Hydrogenolyse von <u>55</u> und Hydrolyse des	
Natriumsalzes	88

5.3.	Noch ein Versuch - der 3-Methyl-7-oxo- 4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-car- bonsäure-p-nitrobenzylester	89
5.4.	Vergleich der Halbwertszeiten	90
5.5.	Die biologische Aktivität 6-methylsubsti- tuierter und am C-6 unsubstituierter Oxa- peneme	91
5.5.1.	Antibakterielle Aktivität	91
5.5.2.	β -Lactamase-Hemmung	93
<u>6. Die Cyclisierung mit Quecksilberchlorid und Queck- silberoxid - eine Methode auch zur Darstellung von Penemen ?</u>		95
<u>7. Ausblick</u>		99

Experimenteller Teil

<u>8. Allgemeines</u>	101
8.1. Physikalische Meßgeräte	101
8.2. Lösungsmittel	103
8.3. Herkunft der eingesetzten Chemikalien	103
8.4. Chromatographische Verfahren	104
8.5. Präparative Methodik	104



8.6.	Kinetische Messungen	105
8.6.1.	Herstellung der Phosphatpufferlösungen	105
8.6.2.	Meßbedingungen	106
8.6.3.	Bestimmung der Halbwertszeiten	107
8.7.	Bakterielle Tests	107
8.7.1.	Verwendetes Material	107
8.7.2.	Untersuchte Bakterienstämme	108
8.7.3.	Durchführung der bakteriellen Tests	108

9. Synthesen einiger Ausgangsmaterialien 109

9.1.	Bromessigsäure-p-nitrobenzylester	109
9.2.	Methoxyessigsäurechlorid (22 b)	110
9.3.	Natriumthiophenolat	111

10. Synthesen der Natriumsalze 3-substituierter

6,6-Dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]

hept-2-en-2-carbonsäuren 112

10.1.	Essigsäureisobutenylester (16)	112
10.2.	4-Acetoxy-3,3-dimethylazetidin-2-on (18) ...	113
10.3.	4-t-Butylthio-3,3-dimethylazetidin-2-on (19)	115
10.4.	(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-essigsäureethylester (20)	117

10.5.	(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny- nyl)-essigsäure-p-nitrobenzylester (21)	119
10.6.	(4-t-Butylsulfinyl-3,3-dimethyl-2-oxo-1-aze- tidinyl)-essigsäure-p-nitrobenzylester (29).	121
10.7.	[3,3-Dimethyl-4- [(5,5-dimethyl-3-oxo- cyclohex-1-enyl)oxy] -2-oxo-1-azetidiny] - essigsäure-p-nitrobenzylester (30)	123
10.8.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny)-3-hydroxybut-2-ensäure-p-nitrobenzyl- ester (23 a)	125
10.9.	2-(4-t-Butylsulfinyl-3,3-dimethyl-2-oxo- 1-azetidiny)-3-hydroxybut-2-ensäure- p-nitrobenzylester (27)	127
10.10.	3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo- [3.2.0]-hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitroben- zylester (26 a)	129
10.11.	3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo- [3.2.0]-hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 a)	138
10.12.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny)-3-hydroxy-4-methoxybut-2-ensäure- p-nitrobenzylester (23 b)	139
10.13.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny)-3-hydroxypent-2-ensäure-p-nitroben- zylester (23 c)	141

10.14.	3-Ethyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabi- cyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure- p-nitrobenzylester (26 c)	143
10.15.	3-Ethyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabi- cyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 c)	146
10.16.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-3-hydroxy-4-methylpent-2-ensäure- p-nitrobenzylester (23 d)	147
10.17.	3-Isopropyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure- p-nitrobenzylester (26 d)	149
10.18.	3-Isopropyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-aza- bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 d)	151
10.19.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure- p-nitrobenzylester (33 e)	152
10.20.	3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabi- cyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitro- benzylester (26 e)	154
10.21.	3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabi- cyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 e)	161

10.22.	3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-o-nitrobenzylester (32 e)	162
10.23.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-3-hydroxy-5,5-dimethylhex-2-ensäure-p-nitrobenzylester (23 f)	164
10.24.	3-(2,2-Dimethylpropyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 f)	166
10.25.	3-(2,2-Dimethylpropyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 f)	167
10.26.	2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-5-chlor-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester (33 g)	169
10.27.	3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 g)	171
10.28.	3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 g)	173

<u>11. Synthesen 3-substituierter 6-Methyl-7-oxo-4-oxa-</u> <u>1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-</u> <u>p-nitrobenzylester und -salze</u>	175
11.1. Essigsäure-1-propenylester (38 a,b)	175
11.2. cis/trans-4-Acetoxy-3-methylazetidin-2-on (40 a,b)	176
11.3. cis/trans-4-t-Butylthio-3-methylazetidin- 2-on (41 a,b)	180
11.4. cis-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidi- nyl)-essigsäure-p-nitrobenzylester (42 b) ..	183
11.5. trans-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azeti- dinyl)-essigsäure-p-nitrobenzylester (42 a)	186
11.6. trans-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-aze- tidinyl)-3-hydroxy-5,5-dimethylhex-2-en- säure-p-nitrobenzylester (43 a)	189
11.7. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6-methyl-7-oxo-4-oxa- 1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure- p-nitrobenzylester (45)	192
11.8. cis-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azeti- dinyl)-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure- p-nitrobenzylester (46 b)	195
11.9. trans-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-aze- tidinyl)-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure- p-nitrobenzylester (46 a)	197

11.10.	3-t-Butyl-6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo- [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitroben- zylester (48)	199
11.11.	3-t-Butyl-6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo- [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (49)	202

12.	<u>Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-7-oxo- 4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure und ein weiterer Versuch</u>	203
-----	---	-----

12.1.	4-t-Butylthioazetidin-2-on (51)	203
12.2.	(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidinyI)-essig- säure-p-nitrobenzylester (52)	206
12.3.	2-(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidinyI)-4,4-di- methyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester (53)	209
12.4.	3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]- hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (55)	212
12.5.	3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]- hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (56)	216
12.6.	2-(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidinyI)- 3-hydroxybut-2-ensäure-p-nitrobenzylester (57)	217

<u>13. Versuche zur Darstellung von Penemen über die</u> <u>Cyclisierung mit Quecksilber(II)chlorid und</u> <u>Quecksilber(II)oxid</u>	219
13.1. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-3-(methylsulfonyl)oxy-but-2-ensäure- p-nitrobenzylester (59)	219
13.2. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-3-triphenylmethylthiobut-2-ensäure- p-nitrobenzylester (62)	222
13.3. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azeti- diny1)-3,3-bis(methylthio)-prop-2-ensäure- p-nitrobenzylester (63)	223
<u>14. Strukturverzeichnis der dargestellten Verbindun-</u> <u>gen und Zuordnung im experimentellen Teil</u>	226
<u>15. Zusammenfassung</u>	233
<u>16. Literaturverzeichnis</u>	237

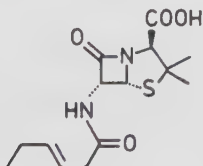
Verwendete Abkürzungen :

Ac	Acetyl
DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-en
DME	1,2-Dimethoxyethan
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
Et	Ethyl
Hal	Halogen
mCPBA	meta-Chlorperbenzoesäure
ONB	ortho-Nitrobenzylester
n-Bu	n-Butyl
Ph	Phenyl
PNB	para-Nitrobenzyl
Py	Pyridin
t-Bu	tertiär-Butyl
THF	Tetrahydrofuran

1. Einleitung

1.1. Entwicklung und Bedeutung der β -Lactam-Antibiotika^{1,2}

Bereits aus der zweiten Hälfte des vorigen Jahrhunderts lagen verschiedene Beobachtungen vor, daß Pilze der Gattung *Penicillium* durch Ausscheidung bestimmter Wirkstoffe das Wachstum von Bakterien hemmten. 1929 entdeckte dann der schottische Bakteriologe A. Fleming bei Untersuchungen an eitererregenden Staphylokokken, daß sich auf einem längere Zeit unbeachtet gebliebenen Nährboden zufällig eine Kolonie des Schimmelpilzes "*Penicillium notatum*" gebildet und die Vermehrung der Bakterien in dessen unmittelbarer Umgebung unterdrückt hatte. Er erkannte, daß für diese Erscheinung ein Stoffwechselprodukt des Pilzes verantwortlich sein mußte und gab ihm den Namen Penicillin (später als Penicillin F bezeichnet).

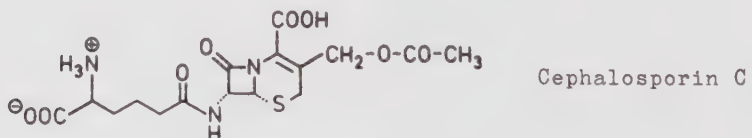


Penicillin F

Der neue Wirkstoff erwies sich allerdings als nur gegen bestimmte (grampositive) Bakterien wirksam. Fleming selbst maß seiner Entdeckung keine allzu große Bedeutung bei. Erst die Reinigung des Penicillins 1939 durch Howard W. Florey

und Ernst B. Chain in Oxford und die folgenden Untersuchungen seiner bakteriziden Eigenschaften an Mäusen offenbarten die weitreichenden Konsequenzen der Entdeckung. Vier Jahre später gelang an gleicher Stelle auch die Strukturaufklärung. Nach ersten klinischen Tests im Jahre 1941 fand das verwandte Penicillin G während des Zweiten Weltkriegs schnell breite Anwendung in der Behandlung bakterieller Infektionskrankheiten. Das Zeitalter der β -Lactam-Antibiotika war angebrochen. Es wurden enorme finanzielle Anstrengungen unternommen, um nach einem effektiveren Penicillin-Erzeuger, der in dem Pilz "Penicillium chrysogenum" bald gefunden war, zu suchen und durch verbesserte Methoden der Produktion und Isolierung ausreichende Mengen des Antibiotikums zu gewinnen.

Schon kurze Zeit später folgte die Entdeckung des Cephalosporin C, das Brotzu 1945 erstmals aus dem Pilz "Cephalosporium acremonium" isoliert hatte und dessen Struktur 1953 durch Newton und Abraham aufgeklärt wurde.



Es zeigte zwar nur geringe antibakterielle Aktivität, war aber auch gegen penicillinresistente Keime wirksam. In den 60er Jahren ermöglichte die leichte technische Zugänglichkeit der beiden Stammverbindungen, der 6-Aminopenicillan-

säure (6-APA) und der 7-Aminocephalosporansäure (7-ACA), die Herstellung zahlreicher halbsynthetischer Penicilline und Cephalosporine. Die von da an immer stürmischer verlaufende Entwicklung führte zu Synthesen von β -Lactamen mit erheblich verbesserten biologischen Eigenschaften, d.h. höherer antibakterieller Aktivität und breiterem Anwendungsspektrum. Im Laufe der Jahre verlor das Penicillin allmählich seine dominierende Rolle.

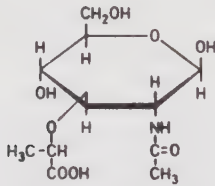
Besonders seit den 70er Jahren wurden durch aufwendige Screening-Programme viele weitere β -Lactam-Antibiotika in der Natur gefunden, darunter völlig neuartige Verbindungen wie die bicyclischen Carbapeneme oder die monocyclischen Monobactame. Gleichzeitig gesellten sich zunehmend total-synthetisch hergestellte Verbindungen wie Peneme, Oxa- und Carbacepeme u.a. zu den klassischen, durch Partialsynthese aus 6-APA und 7-ACA gewonnenen Präparatengruppen. Heute nehmen die β -Lactame mit einem Anteil von 60 % eine beherrschende Stellung auf dem Antibiotikamarkt ein. Nach wie vor stellen sie die wichtigsten Wirkstoffe im Kampf gegen bakterielle Infektionskrankheiten dar. Sie vereinigen eine hohe antibakterielle Wirksamkeit mit geringer Toxizität und guter Verträglichkeit.

1.2. Wirkungsweise der β -Lactam-Antibiotika²⁻⁵

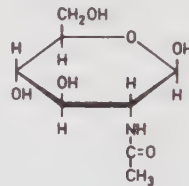
Die bakterizide Wirkung zahlreicher β -Lactame beruht auf einem Eingriff in die Zellteilung von Bakterien, in dem sie

die Biosynthese der neu zu bildenden Bakterienzellwand hemmen.

Aufgebaut ist die Zellwand sowohl bei grampositiven als auch gramnegativen Bakterien aus einer inneren Cytoplasmamembran und einer Peptidoglykanschicht, die diese von außen überzieht. Gramnegative Keime verfügen zusätzlich noch über eine äußere Zellmembran, die die hier schwächer ausgeprägte Peptidoglykanschicht schützt. Das Peptidoglykan bildet ein dreidimensionales Netzwerk, dessen Hauptstränge aus zwei alternierenden Aminosukcern bestehen, der N-Acetylmuraminsäure (NAM) und dem N-Acetylglucosamin (NAG).



NAM



NAG

Die NAM-Einheiten sind dabei über den Milchsäurerest mit Peptidketten verknüpft, die ihrerseits wieder untereinander vernetzt sind. Diese Struktur der Zellwand verleiht der unter einem hohen internen osmotischen Druck stehenden Bakterienzelle ihre Festigkeit (Abb. 1).

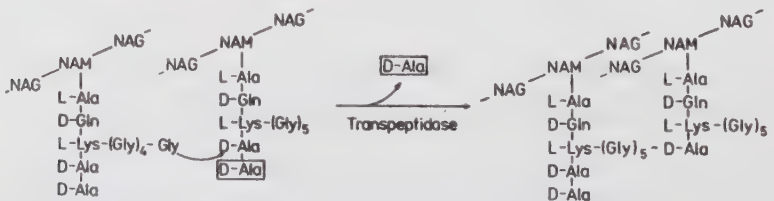


Abb. 1

Die Art der Vernetzung der aus NAM und NAG aufgebauten Polysaccharidstränge variiert unter den verschiedenen Bakterienarten. Im *Staphylococcus aureus* setzt sich das unmittelbar mit der NAM-Einheit verknüpfte Oligopeptid aus fünf D- und L-Aminosäuren zusammen, wobei die ϵ -Aminogruppe des Lysins eine weitere Pentaglycinkette trägt.

Im letzten Schritt der Zellwandsynthese erfolgt die Quervernetzung paralleler Peptidoglykanstränge durch Transpeptidierung. Ein N-terminaler Glycinrest einer Peptidseitenkette greift die Bindung zwischen den beiden D-Alanin-Einheiten eines NAM-Pentapeptids in einer benachbarten Peptidoglykankette an und ersetzt das C-terminale D-Alanin. Diese Vernetzungsreaktion erfordert die Mitwirkung eines in der Cytoplasma-Membran gebundenen Enzyms, der Transpeptidase.

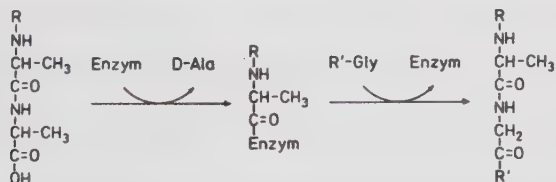


Abb. 2

Die enzymatische Katalyse verläuft unter reversibler Bildung einer Acyl-Enzym-Zwischenstufe (Abb. 2). Es gibt Hinweise, daß dabei ein Serinrest im aktiven Zentrum des Enzyms als nukleophiles Agens fungiert. Auf dieser Stufe der Zellwandsynthese vermögen nun β -Lactam-Antibiotika wirksam zu werden. Infolge der hohen Reaktivität des β -Lactam-Ringes können sie Transpeptidasen unter Aufspaltung desselben acylieren und selektiv hemmen. Im Gegensatz zum natürlichen

Substrat erfolgt die Acylierung hier jedoch irreversibel, wodurch Transpeptidasen ihre Fähigkeit zur Verknüpfung der Peptidseitenketten einbüßen. Die Festigkeit der Bakterienzellwand geht verloren.

Ein vereinfachtes Modell für das Absterben der Bakterien geht von der Vorstellung aus, daß die Inhibierung der Transpeptidase zwar das Wachstum der Zellwand während der Zellteilung hemmt, aber nicht das Wachstum anderer zellulärer Komponenten. Das Peptidoglykangerüst ist schließlich nicht mehr in der Lage, das wachsende Protoplasmavolumen zu umhüllen. Es entstehen sogenannte Protoplasten, die der schützenden Wand entwachsen. In Abwesenheit eines stabilisierenden äußeren osmotischen Druckes zerreißt die geschwächte Zellwand und der Zellinhalt tritt aus.

Neuere Arbeiten haben jedoch gezeigt, daß der Wirkungsmechanismus weitaus komplizierter ist als ursprünglich angenommen. So hat man Anfang der 70er Jahre festgestellt, daß neben Transpeptidasen eine Reihe weiterer Proteine an die Cytoplasma-Membran gebunden ist, die ebenfalls die Fähigkeit zur spezifischen Anlagerung von β -Lactam-Antibiotika besitzen. Sie werden als penicillinbindende Proteine oder kurz PBPs bezeichnet. In den meisten Fällen bleiben Schädigungen dieser PBPs durch β -Lactame ohne Auswirkungen. Hingegen hat die Beeinträchtigung bestimmter PBPs, die eine Funktion bei Zellstreckung und Zellteilung wahrnehmen oder allgemein für die Zellform verantwortlich sind, für die Zelle tödliche Folgen.

Heute glaubt man auch, daß die oben geschilderte Bakteriolyse, also das Zerplatzen der Zelle, nur eine indirekte Folge der Enzyminhibierung sein könnte und Peptidoglykan-Hydrolasen eine wesentliche Rolle in diesem Prozeß spielen könnten. Und sie ist bei weitem nicht die einzig mögliche Konsequenz einer Hemmung der für die Zellwandsynthese verantwortlichen Enzyme. Verschiedene Bakterien sterben ab, ohne eine ausgeprägte Lyse der Zellwand zu zeigen, andere wiederum stellen ihr Wachstum ein, ohne abzusterben oder rasch zu lysieren. Die zuletztgenannte Erscheinung wird als Bakteriostasis bezeichnet und ist bei Entfernen des Antibiotikums reversibel. Mechanismen und wechselseitige Beziehungen dieser sehr unterschiedlichen Reaktionen auf die Inhibierung der Zellwandsynthese sind bis heute noch nicht genau verstanden.

Da eine ähnlich kovalent verknüpfte Stützstruktur mit D-Alanin-Bausteinen in Säugetierzellen nicht zu finden ist, wirken β -Lactam-Antibiotika selektiv auf Bakterienzellwände ein. Auf dieser Eigenschaft beruht ihre überaus geringe Toxizität in der Behandlung von Infektionskrankheiten.

1.3. Struktur, Reaktivität und biologische Aktivität von β -Lactamen^{5,6}

Die irrtümliche Erkennung von Penicillin durch Transpeptidasen geht nach der Theorie von Tipper und Strominger auf seine sehr große Ähnlichkeit mit einer Konformation des

Übergangszustandes der D-Alanyl-D-Alanin-Einheit zurück. Aus diesem Modell ergeben sich folgende Voraussetzungen, die ein wirksames β -Lactam erfüllen sollte :

1. Es muß eine ausreichende strukturelle Ähnlichkeit mit dem natürlichen Substrat besitzen, so daß es von den für die Zellwandsynthese essentiellen Enzymen erkannt werden kann.
2. Es muß über eine hochreaktive β -Lactam-Bindung verfügen, so daß eine schnelle Acylierung am aktiven Zentrum des Enzyms erfolgen kann.
3. Die Inhibierung sollte extrem langsam reversibel oder irreversibel sein, damit ein Transfer des kovalent gebundenen Acylrestes auf Amino-Akzeptor-Gruppen in der Zellwand vermieden wird.

Weitere Kriterien für die Wirksamkeit von β -Lactamen sind eine gute Permeation durch die äußeren Schichten der Zellwand und eine hohe Stabilität gegen desaktivierende Enzyme. Nun werden sowohl Reaktivität als auch Selektivität gegenüber dem biologischen Substrat durch anellierte Ringe oder Substituenten sehr wesentlich beeinflusst. Aufgrund des komplizierten Wirkungsmechanismus sind aber Zusammenhänge zwischen Struktur und biologischer Wirkung des Antibiotikums nur schwer vorhersehbar. Fortschritte auf dem Gebiet der β -Lactam-Antibiotika bleiben daher meist dem Zufall überlassen.

1.4. Resistenzbildung und β -Lactamase-Hemmung^{2,5,7,8}

Die einfachste Form der Resistenz findet man in gramnegativen Keimen wie *Escherichia coli*, gegen die Penicillin wenig wirksam ist. Sie ist eine Folge des andersartigen Aufbaus der Zellwand, die, wie schon früher erwähnt, durch eine zusätzliche äußere Membran geschützt wird. Diese auf ihrer Innenseite hydrophobe Membran stellt, obgleich sie Proteinkanäle für kleine hydrophile Moleküle enthält, eine wirkungsvolle Permeabilitätsbarriere für viele β -Lactam-Antibiotika dar.

Der bestimmten Bakterienarten inhärenten Resistenz stehen verschiedene Formen erworbener Resistenz gegenüber. Dazu gehören beispielsweise Mutationen im Genom eines Bakteriums, die zu einer Herabsetzung der Affinität der PBPs für β -Lactam-Antibiotika führen. Durch Selektion einer solchen Mutante entstehen resistente Bakterienstämme. Klinisch ist diese Art der Resistenz wahrscheinlich nur von geringer Bedeutung.

Große Probleme bereitete jedoch die Entwicklung hochspezifischer Abwehrmechanismen der Zelle gegen β -Lactam-Antibiotika. Bereits 1940 hatten Chain und Abraham eine Penicillinase-Aktivität bei *E. coli* beobachtet. Und schon kurze Zeit nach dem ersten klinischen Einsatz von Penicillin wurde bei grampositiven Keimen eine rasche Resistenzausbreitung festgestellt. Waren 1948 50 % der in Krankenhäusern untersuchten Staphylokokken resistent, so betrug der Anteil um 1955 bereits bis zu 80 %. Eingehende Untersuchungen die-

ses Phänomens zeigten, daß die zunehmende Resistenzentwicklung auf die Wirkung von β -Lactamasen zurückzuführen war, Enzymen vom Hydrolase-Typ. Sie verursachen eine rasche hydrolytische Spaltung des β -Lactam-Ringes, noch bevor das Antibiotikum das eigentliche Zielenzym erreicht, und sind entwicklungsgeschichtlich vermutlich eng mit den PBPs verwandt.

Bald nachdem man die zuerst angesprochene Schwierigkeit der Resistenz gramnegativer Bakterien durch den Einsatz von Breitband-Antibiotika überwunden hatte, trat auch hier die gleiche Erscheinung auf. Gramnegative Keime begannen β -Lactamasen zu produzieren. Damit war ein äußerst ernstes Problem für die Bekämpfung bakterieller Infektionskrankheiten entstanden. Besonders schwierig gestaltet sich dessen Lösung aufgrund der zahlreichen und sehr effektiven Mechanismen, mit deren Hilfe die Fähigkeit zur Produktion von β -Lactamasen innerhalb verwandter wie artfremder Stämme, also auch von nichtpathogenen zu pathogenen Keimen, weitergegeben werden kann.

Konjugation : Während der geschlechtlichen Vereinigung zweier Bakterien wird ein Chromosomenstück über einen Plasmanschlauch von einer Spender- auf eine Empfängerzelle übertragen.

Transformation : Zellfreie DNA wird von einer Zelle in das eigene Genom eingebaut.

Transduktion : Ein Chromosomenstück einer von einem Virus

befallenen Wirtszelle wird in die DNA der Virusnachkommen eingebaut. Bei der Infektion einer zweiten Zelle können dann die aus der ursprünglichen Wirtszelle stammenden Gene auf deren Chromosom übertragen werden.

Häufig erfolgt die Codierung der β -Lactamasen auch auf Plasmiden, kleinen ringförmigen DNA-Stücken außerhalb des Chromosoms. Diese als R-Faktoren bezeichneten Plasmide können die Gene für bis zu 8 Resistenzen enthalten und vermehren sich unabhängig vom Teilungszyklus. Die Übertragung geschieht im Wege der Konjugation. Man spricht von einer infektiösen Resistenz. Erst in neuerer Zeit wurde mit der Transposition ein weiterer Mechanismus gefunden : In bestimmten Bereichen der DNA existieren sogenannte springende Gene, die zwischen verschiedenen Plasmiden ausgetauscht werden können.

Die hier dargestellte Vielfalt der Möglichkeiten zur Verbreitung von Resistenzen, die zunehmend auch auf ohnehin schon sehr problematische, nur schwer angreifbare Keime übertragen werden, zwingt die Forschung zur Entwicklung immer wirksamerer neuer β -Lactam-Antibiotika.

Einer der ersten Ansätze, der Resistenz β -Lactamase produzierender Bakterien zu begegnen, bestand in der Entwicklung β -Lactamase-stabiler Antibiotika. Fortschritte in dieser Richtung brachte die Entdeckung des Cephalosporin C, das zwar nur geringe antibakterielle Aktivität gegen grampositive Keime, aber hohe Widerstandsfähigkeit gegen Staphylokokken- β -Lactamase besaß und den Weg zu weiteren

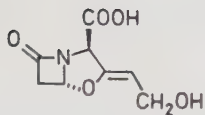
synthetischen β -Lactamase-stabilen Verbindungen wies.

Bereits sehr früh wurde parallel dazu ein zweiter Weg zur Überwindung des Resistenzproblems beschritten : Die Suche nach Substrat-Analoga, die in der Lage sind, β -Lactamasen zu hemmen und dadurch dem eigentlichen, empfindlichen Substrat den Zugang zu den Zielenzymen zu erschließen. 1956 stellte man fest, daß Cephalosporin C die enzymatische Hydrolyse des Benzylpenicillins hemmt, indem es sich konkurrierend an die β -Lactamase anlagert. Das Enzym ist dann zeitweilig blockiert, so daß das Penicillin seine Wirkung ungestört entfalten kann. Die Bindung des Cephalosporins an die β -Lactamase ist jedoch reversibel, wenn auch die Hydrolyse langsam erfolgt. Der Schutz hält daher nicht lange an. Wünschenswert war deshalb eine irreversible Hemmung von β -Lactamasen.

2. Die Entdeckung bicyclischer β -Lactame, die einen O-Heterocyclus enthalten

2.1. Die Clavulansäure und ihre Eigenschaften⁹

Ein bedeutender Durchbruch gelang mit der Isolierung der in dem Pilz "Streptomyces clavuligerus" vorkommenden Clavulansäure 1 a im Jahre 1976 durch Howarth und Brown (Beecham).



1a

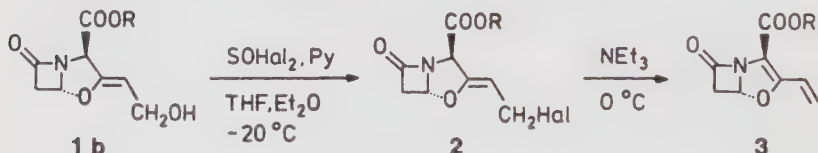
Es war das erste bekanntgewordene, natürlich vorkommende bicyclische β -Lactam, das ein Sauerstoffatom im anellierten Ring enthielt.

Clavulansäure war nur schwach aktiv gegen grampositive und gramnegative Keime, erwies sich aber als sehr wirksamer Inhibitor zahlreicher β -Lactamasen. Oft bewirkt sie schon in sehr geringen Konzentrationen eine irreversible Hemmung.

Isoliert wird Clavulansäure meist in Form des Kaliumsalzes, das auch unter der Bezeichnung AUGMENTIN als Kombinationspräparat mit Amoxicillin-Trihydrat (ein Penicillin-Abkömmling und das eigentlich wirksame Antibiotikum) im Handel ist¹⁰. Die freie Säure läßt sich als eine schnell zersetzliche ölige Substanz gewinnen. Gleich ihren Salzen reagiert sie sehr empfindlich auf Nukleophile sowie saure oder alkalische Bedingungen. Dieser Verbindungstyp ist also ähnlich labil wie die Penicilline.

2.2. Das Zielmolekül – Isomeres der Clavulansäure⁹

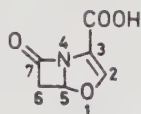
Vielfältige Reaktionen wurden mit den stabileren Estern der Clavulansäure durchgeführt, darunter Isomerisierung (Isoclavulanate) und Hydrierung der Doppelbindung sowie der Austausch der Hydroxylgruppe gegen eine Vielzahl anderer Substituenten. Es stellte sich heraus, daß die inhibitorischen Eigenschaften des Moleküls nur im letzten Fall wenig oder gar nicht beeinträchtigt wurden, ja sich durch bestimmte Reste sogar noch verbessern ließen. Mit Thionylhalogeniden gelang die Herstellung sehr reaktiver Allylhalogenide 2 als Zwischenstufe für die Synthese von Clavulansäure-Derivaten.¹²



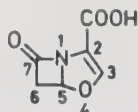
Behandelte man 2 mit einer nichtnukleophilen Base, so entstand das Clavudien 3, das in Lösung bei 0 °C mehrere Stunden stabil war, aber allmählich polymerisierte¹¹. 1,4 - Additionen ermöglichten den Zugang zu weiteren Abkömmlingen der Clavulansäure. Gleichzeitig war 3 die Stammverbindung einer ganz neuen Substanzklasse, die das Thema für die vorliegende Arbeit abgab.

2.3. Nomenklatur der neuen Verbindungsklasse

Die Benennung des neuartigen β -Lactam-Bicyclus kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Die Autoren bevorzugen meist die etwas kürzeren Trivialnamen.



I



II

Die Bezeichnung Clav-2-em-3-carbonsäure (I) leitet sich von dem für das Molekülskelett der Clavulansäure eingeführten Namen "Clavam" ab. Parallel dazu nennen einige Autoren das Molekül 1-Oxadethiapien-2-em-3-carbonsäure oder nur Oxapen-2-em-3-carbonsäure in Analogie zu den von Woodward und Mitarbeitern 1975 in Basel erstmals hergestellten Penemen. Sehr häufig stehen die Kurzbezeichnungen Clavem oder Oxapenem, die eigentlich nur den Bicyclus selbst beschreiben, auch für das gesamte Molekül. Nomenklaturgerecht heißt diese Verbindung 7-Oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure (II).

2.4. Erwartungen an die Stabilität der Oxapeneme¹³⁻¹⁵

Wie bereits in 1.3. erwähnt, ergibt sich aus dem von Strominger und anderen postulierten Wirkungsmechanismus die Forderung, daß ein wirksames β -Lactam zugleich ein reaktives

Acylierungsmittel sein sollte. Die Amidbindung des β -Lactams sollte sich leichter spalten lassen als eine gewöhnliche Peptidbindung.



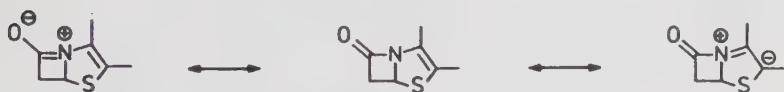
In nichtcyclischen Carbonsäureamiden kann sich das freie Elektronenpaar des Amidstickstoffs parallel zum π -Orbital der Carbonylgruppe einstellen und mit ihm überlappen. Durch Delokalisierung der Elektronen erhält die C-N-Bindung einen erheblichen Doppelbindungscharakter. Den sp^2 -Charakter des Amidstickstoffs und die damit verbundene Planarisierung bezüglich seiner Substituenten gibt die zwitterionische Grenzstruktur wieder. Da die Einstellung der Planarität hier nicht gehindert ist, trägt sie einen großen Anteil zur Amidresonanz bei. Daraus resultieren eine hohe Stabilität und eine geringe Reaktivität der Amidbindung.



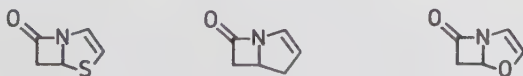
In monocyclischen β -Lactamen treten diese Effekte wegen des gespannten Vierrings in bereits stark abgeschwächter Form auf. Die Behinderung der Amidresonanz führt zu einer Verkürzung der C-O- und einer Verlängerung der C-N-Bindung. Dies schlägt sich in einer starken Erhöhung der Carbonylstreckschwingungsfrequenz nieder. Mit zunehmendem Einfachbindungscharakter wird die Amidbindung reaktiver.



Anellierte Ringe wie im Penicillin zwingen den Amidstickstoff in eine pyramidale Anordnung zu den benachbarten C-Atomen. Die parallele Einstellung des freien Elektronenpaares zum π -Orbital der Carbonylgruppe wird wesentlich erschwert und dementsprechend die Delokalisierung der Elektronen eingeschränkt. Der weiter abnehmende Anteil der zwitterionischen Struktur an der Resonanz findet seinen Ausdruck in der zunehmenden Verlängerung der C-N-Bindung und einer noch leichteren Öffnung des β -Lactam-Rings.



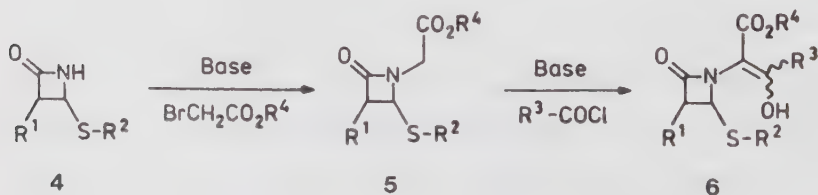
Eine nochmalige Erhöhung der Ringspannung und damit der Pyramidalisierung des Amidstickstoffs in den Penemen, deren Fünfring eine zusätzliche Doppelbindung enthält, verstärken den Effekt und sind verantwortlich für die außerordentlich hohe Reaktivität dieser Verbindungen. Ebenfalls einen Beitrag zur Schwächung der Amidbindung leistet die hier mögliche Enaminresonanz, in der das freie Elektronenpaar mit dem π -Orbital der C=C-Bindung überlappen kann.

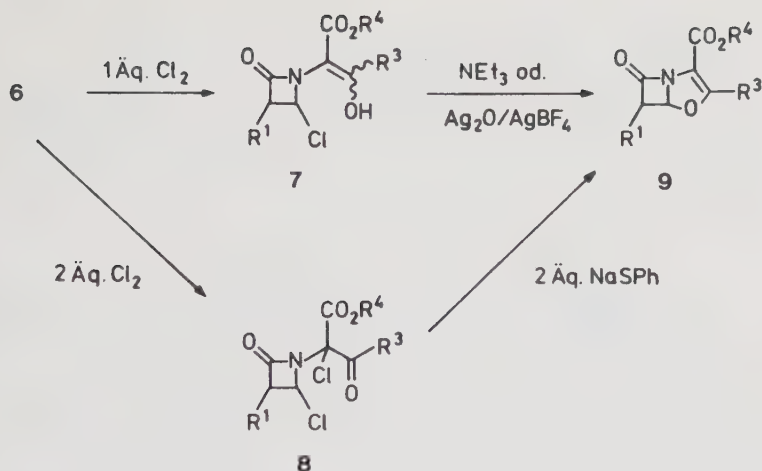


Vergleicht man nun das Oxapenemgerüst mit den analogen Strukturen der Peneme und Carbapeneme, so sollten aufgrund der kurzen Bindungen des Ringsauerstoffs zu seinen Nachbarn die Ringspannung und damit auch die Pyramidalisierung des Amidstickstoffs ein Maximum erreichen. Neben der dadurch verursachten weiteren Schwächung der Amidresonanz sollte der vom Sauerstoff ausgehende Elektronenzug die zwitter-ionische Grenzstruktur der Enaminresonanz begünstigen und somit zu einer zusätzlichen Destabilisierung des Moleküls beitragen. Oxapeneme sollten also innerhalb dieser Reihe die am wenigsten stabilen β -Lactame sein.

2.5. Methoden zur Darstellung von Oxapenemen¹⁶⁻²⁴

Ein weiterer Vertreter des neuen Verbindungstyps trat als Nebenprodukt der von Bentley¹⁷ durchgeführten ersten Totalsynthese racemischer Clavulansäure auf. Geringe Modifikationen der Reaktionsbedingungen gestatteten auch die gezielte Synthese anderer Oxapeneme.

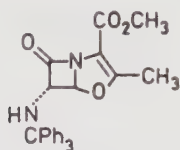




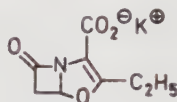
Der zunächst allgemein übliche Weg bestand im Aufbau eines Enols 6, in der Darstellung eines 4-Chloroazetidin-2-ons 7 und im Ringschluß mit Triethylamin oder auch $\text{Ag}_2\text{O}/\text{AgBF}_4$ ¹⁶. 1982 schilderte Ihara²⁴ am Beispiel mehrerer Verbindungen eine Variante, die über ein Dichlorid 8 führte. Der Ringschluß erfolgte durch reduktive Cyclisierung mit Natriumthiophenolat. Sowohl die in diesen Reaktionsfolgen eingesetzten Basen als auch die übrigen Reaktionsbedingungen unterscheiden sich geringfügig von Autor zu Autor. Bisher wurden in der Mehrzahl der Fälle am C-6 unsubstituierte oder manchmal auch monosubstituierte Oxapeneme beschrieben. Synthesen 6,6-disubstituierter Verbindungen waren nicht bekannt. Bezüglich der Konfiguration am C-5 des Oxapenems verlaufen die obigen Synthesen unspezifisch. Beiträge zur Chemie der Oxapeneme leisteten überwiegend die Forschungslaboratorien von Beecham und Glaxo in England.

2.6. Biologische Aktivität bekannter Oxapeneme

Angaben zur biologischen Wirksamkeit von Oxapenemderivaten existieren in der Literatur nur in geringem Umfang und sind darüberhinaus widersprüchlich.



10

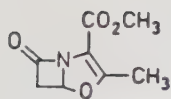


11

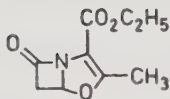
Wird der Methylester 10 als ein nur schwacher Inhibitor beschrieben¹⁶, so heißt es von dem Kaliumsalz 11¹⁹, es sei ein der Clavulansäure überlegener Inhibitor zellfreier β -Lactamasen.

2.7. Instabile Oxapeneme !

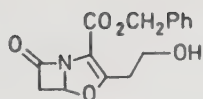
Immer wieder weisen die Autoren auf die außerordentliche Labilität von ihnen hergestellter Oxapeneme hin. Dies gilt in besonderem Maße für die Carbonsäuresalze. Beispielsweise ist 11 so instabil in wässrigem Milieu, daß bakteriologische Tests nur an zellfreien β -Lactamasen durchgeführt werden konnten¹⁹. Aber auch die Ester der Carbonsäuren waren meist schon recht empfindliche Substanzen. Chromatographische Reinigungen führten zu beträchtlichen Ausbeuteverlusten.^{16,18,20}



12



13



14

12 wurde nur durch sein ^1H -NMR-Spektrum nachgewiesen²², öliges 13 erwies sich als zu instabil, um eine analysenreine Probe zu bekommen²³ und 14, das durch Isomerisierung von Clavulansäure erhältlich war, dimerisierte in der Lösung bereits innerhalb eines Tages bei Raumtemperatur vollständig²⁵. Aus diesem Grund hat das Interesse an diesen Verbindungen von Jahr zu Jahr nachgelassen. Seit etwa 1984 sind keine weiteren Veröffentlichungen zu diesem Thema mehr erschienen.

3. Strukturplanung neuer Oxapeneme

Die Verwandtschaft der Oxapeneme mit den Penemen ließ vermuten, daß es sich auch bei ihnen um eine Klasse hochwirksamer Substanzen, also potentieller Antibiotika, handelt. Die bisher nur als recht instabil bekannten Oxapeneme erschienen somit als geeignete Kandidaten für weitere aussichtsreiche Untersuchungen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ausgehend von sehr einfachen β -Lactam-Grundkörpern, neue wirksame Oxapeneme

zu planen und zu synthetisieren, die sich gegenüber den bekannten Vertretern dieser Verbindungsklasse durch eine erhöhte Stabilität auszeichneten, und auf ihre biologische Aktivität gegen intakte Bakterien zu untersuchen.

3.1. Die Notwendigkeit ausreichender Stabilität

Wirkungsstärke und Wirkungsbreite, also das Ausmaß der Wirksamkeit gegen grampositive und gramnegative Bakterien, bestimmen die potentielle Eignung eines β -Lactam-Derivates als Antibiotikum und damit seine Bedeutung für die pharmazeutische Forschung.

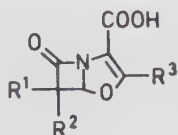
Die therapeutische Verwendbarkeit potentieller β -Lactam-Antibiotika hängt jedoch noch von einer Vielzahl weiterer Faktoren ab, die insbesondere in der Physiologie des zu behandelnden Organismus und in der Metabolisierung dieser Substanzen begründet liegen.

Ein entscheidendes Kriterium für die Wirksamkeit eines β -Lactam-Derivates als Antibiotikum ist seine Reaktivität, d.h. die Leichtigkeit mit der der β -Lactam-Ring geöffnet werden kann. Ein β -Lactam, das als Antibiotikum eingesetzt wird, soll während des Transports über den Magen-Darm-Kanal (bei oraler Applikation) oder die Blutbahn (parenterale Applikation) zum Ort der Infektion, an dem es wirksam werden soll, nicht metabolisiert, also chemisch nicht verändert werden. Dies bedeutet einerseits, daß das β -Lactam

über eine ausreichende Stabilität gegen eine hydrolytische Ringöffnung verfügen muß, andererseits darf diese auch nicht zu hoch sein, da sonst keine Acylierung der für den Aufbau der Bakterienzellwand verantwortlichen Zielenzyme mehr erfolgt und das Antibiotikum wieder ausgeschieden würde, ohne eine Wirkung erzielt zu haben.

Als Maß für die Reaktivität eines β -Lactams kann dabei die Hydrolysegeschwindigkeit in Phosphatpuffer unter physiologischen Bedingungen (pH 7,4, 37 °C) gelten. Die gemessenen Halbwertszeiten für die Hydrolyse geben Aufschluß über die Stabilität der Verbindung. Für eine mögliche Anwendbarkeit eines β -Lactams als Antibiotikum ist als untere Stabilitätsgrenze eine Halbwertszeit von etwa 10 Stunden anzusetzen.

Beeinflusst werden kann diese Stabilität nun über die am β -Lactam befindlichen Substituenten, wie Erfahrungen an bekannten Systemen gezeigt haben. Zu hohe Stabilitäten waren, wie die verschiedenen Literaturstellen zeigen, im Falle der Oxapeneme



nicht zu befürchten. Es mußte im Gegenteil erst versucht werden, über die Variation der Substituenten R^1 , R^2 und R^3 zu hinreichend stabilen Verbindungen zu gelangen.

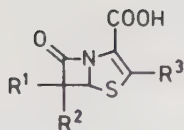
Bei der Forderung nach hinlänglicher Hydrolysestabilität

handelt es sich lediglich um eine Minimalanforderung. In der Praxis müssen noch eine Anzahl weiterer Fragen der Pharmakokinetik wie Serum- und Gewebekonzentration, Serumbindung und die Halbwertszeit der Eliminierung aus dem Serum untersucht werden, bevor ein β -Lactam-Derivat als aussichtsreicher Kandidat für eine praktische Anwendung angesehen werden kann.

Zudem sollten Substituenten so gewählt werden, daß sie die Verbindungen zwar stabilisieren, aber andere wichtige Eigenschaften wie die antibakterielle Wirksamkeit oder eine β -Lactamase inhibierende Wirkung nicht beeinträchtigen. Ferner dürfen sie natürlich auch die Penetration des Moleküls durch die Zellmembranen nicht behindern. Dies sind alles Gesichtspunkte, die im Grunde die Wahl geeigneter Substituenten sehr schwierig und schlecht planbar gestalten. Allen Erwägungen bezüglich der Planung und Synthese neuer Oxapeneme lag innerhalb dieser Arbeit als Hauptkriterium die Frage nach der Stabilität zugrunde.

3.2. Die Peneme als Vorbild ?

Es erhob sich nun die Frage, wie die Substituenten am C-3 und C-6 des Oxapenem-Gerüsts beschaffen sein mußten, um dem Bicyclus eine größtmögliche Stabilität zu verleihen. Konnte hier bei der Auswahl der Substituenten das Penem-molekül,

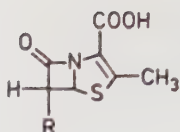


das mit dem Oxapenem strukturell ja sehr eng verwandt ist, als Modell dienen?

3.2.1. Der Einfluß von Substituenten am C-6

Es war bekannt^{1,26-28}, daß Peneme, die sich unmittelbar von Penicillin-Derivaten ableiten, also in der 6-Stellung etwa eine Phenoxyacetamido-Gruppe tragen, sehr labile Verbindungen sind, wesentlich labiler als die unsubstituierten Peneme mit $R^1 = R^2 = \text{H}$. Gleiches gilt für Substituenten des Typs $-\text{OC}_2\text{H}_5$.

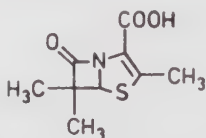
Eine gegenüber der unsubstituierten Verbindung erhöhte Stabilität bezüglich der Hydrolyse brachte hingegen die Einführung einer Alkyl- bzw. Hydroxyalkylgruppe in die 6-Position²⁷⁻²⁹. So erhöhte sich beispielsweise die Hydrolyse-Halbwertszeit in Phosphatpuffer bei pH 7,4 und 37 °C verschiedener 3-Methylpenemcarbonsäuren in der folgenden Reihe erheblich :



R =	OCH ₃ (trans)	H	CH ₃ (trans)
t _{1/2} (h)	3,6	100	360

Die gleiche Tendenz ließ sich in analogen Reihen für andere C-3 - Substituenten wiederfinden. Durchwegs bewirkten alle Reste R = CH₃-, C₂H₅-, HOCH₂- und CH₃CH(OH)- eine Stabilisierung der Verbindungen um einen Faktor 2 - 8. Hierbei erwies sich die Einführung einer Hydroxyethylgruppe, die auch in natürlich vorkommenden β -Lactam-Antibiotika wie den Thienamycinen enthalten ist, als besonders wertvoll, da sie sehr wirksame Verbindungen liefert.²⁷

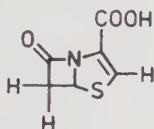
Eine dramatische Erhöhung der Stabilität ergab sich nach Einführung zweier Methylgruppen am C-6 des Bicyclus.



Diese Verbindung war praktisch hydrolysestabil. Die beobachtete Stabilisierung des Penemgerüsts durch Methylgruppen führte Woodward auf eine sterische Abschirmung der Carbonylfunktion des Lactamrings zurück.²⁹

3.2.2. Der Einfluß von Substituenten am C-3

Ausgehend von folgendem Grundkörper

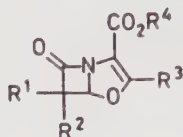


wurde die Stabilität durch Einführung von Substituenten am C-3 in sehr unterschiedlicher Weise beeinflusst. Die meisten Abkömmlinge waren eher stabiler als die unsubstituierte Verbindung und Moleküle mit Substituenten, die Heteroatome enthielten, eher etwas labiler als die 3-Methylpenemcarbonsäure. Ein eindeutiger Trend zugunsten einer bestimmten Substituentenart ließ sich anhand der Daten bekannter Verbindungen nicht ausmachen.²⁸

3.3. Übertragbarkeit auf analoge Bicyclen ?

Aufgrund der engen strukturellen Verwandtschaft der bicyclischen β -Lactame Penem, Carbapenem und Oxapenem lag es natürlich nahe anzunehmen, daß die an den Penemen beobachteten Substituenteneffekte auf die analogen Bicyclen, also auch auf das Oxapenem, übertragbar sein könnten. Diese Erwartungen waren allerdings noch experimentell zu überprüfen. Systematische Untersuchungen über Substituenteneinflüsse gab es nicht.

3.4. Die Wahl der Zielverbindung



$R^4 = H$

= Schutzgruppe

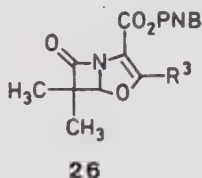
Die meisten der bekannten wirksamen bicyclischen β -Lactame tragen eine Carboxylat-Funktion an dem zum Amid-Stickstoff α -ständigen Kohlenstoffatom des zweiten Ringes. Die biologisch aktiven Spezies sind in aller Regel die freien Säuren bzw. deren Salze. Nur sie können im wäßrigen Milieu des Organismus zu den Zielenzymen transportiert werden und dort abreagieren. Ihre Ester sind bis auf wenige Ausnahmen (Ester, die im Körper spontan oder enzymatisch gespalten werden, wie z.B. der Pivaloyloxymethylester)^{1,30} unwirksam.

Letztendliches Ziel der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen war es dementsprechend auch, die Salze der Oxapenemcarbonsäuren zu erhalten. Als Schutzgruppe R^4 für die Carboxylat-Funktion diente der p-Nitrobenzylester aus dreierlei Gründen :

- 1) p-Nitrobenzylester lassen sich besonders leicht hydrogenolytisch spalten.
- 2) p-Nitrobenzylester führen häufig zu kristallinen Produkten.
- 3) p-Nitrobenzylester sind UV-aktiv. Ihre Reaktionen lassen sich daher dünnschichtchromatographisch besonders gut verfolgen.

Die Substituenten am C-6 wurden so gewählt, daß sie sterisch nicht zu anspruchsvoll waren, aber doch eine bestmögliche Stabilisierung gewährleisteten, sofern sich die an den Penemen beobachteten Substituenteneffekte hier bestätigen sollten. In Analogie zu den in 3.2.1. erwähnten Befunden waren daher auch hier Verbindungen mit $R^1 = R^2 = CH_3$ am vielversprechendsten.

So wurden als Zielmoleküle zunächst Verbindungen des Typs

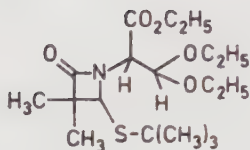


gewählt. Für die Wahl des Substituenten R^3 gab es keine konkrete Vorgabe. Es muß jedoch erwähnt werden, daß Oxapeneme mit $R^3 = H$ bisher nicht synthetisiert wurden, vermutlich infolge ihrer Labilität und der auch synthetisch schwierigeren Zugänglichkeit (vgl. Synthesewege in 2.5.).

Durch Einführung verschiedener Substituenten R^3 und dann auch durch Variieren der Substituenten am C-6 sollte deren Einfluß auf die Stabilität des Moleküls und seine biologische Wirksamkeit untersucht werden.

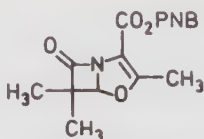
4. Wege zu 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbonsäuren

Erste Versuche, über den folgenden Verbindungstyp,



einen geschützten Aldehyd bzw. ein geschütztes Enol, unter Acetalspaltung und nachfolgender Cyclisierung zu einem in der 3-Stellung unsubstituierten Oxapenem zu gelangen, zeigten keinen Erfolg. Die Synthese der obigen Vorstufe glückte nicht.

So wurde als erstes Zielmolekül das einfachste am C-3 alkylierte Oxapenem, die Verbindung 26 a,

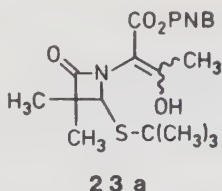


26 a

ins Auge gefaßt. Bei der Darstellung dieser wie auch der weiteren Verbindungen konnte im wesentlichen auf bekannte Methoden und synthetische Zwischenstufen zurückgegriffen werden (vgl. 2.5.). Änderungen erfolgten lediglich im letzten Syntheseschritt.

4.1. Der erste Vertreter - der 3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 a)

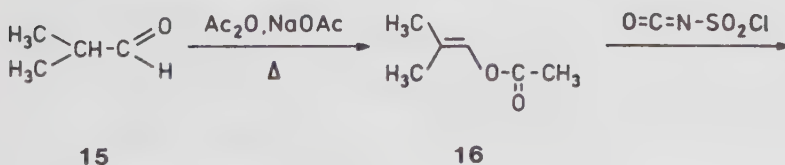
Wie die meisten der bekannten Oxapeneme wurde auch diese Verbindung über eine Enolstruktur 23 a als Vorstufe

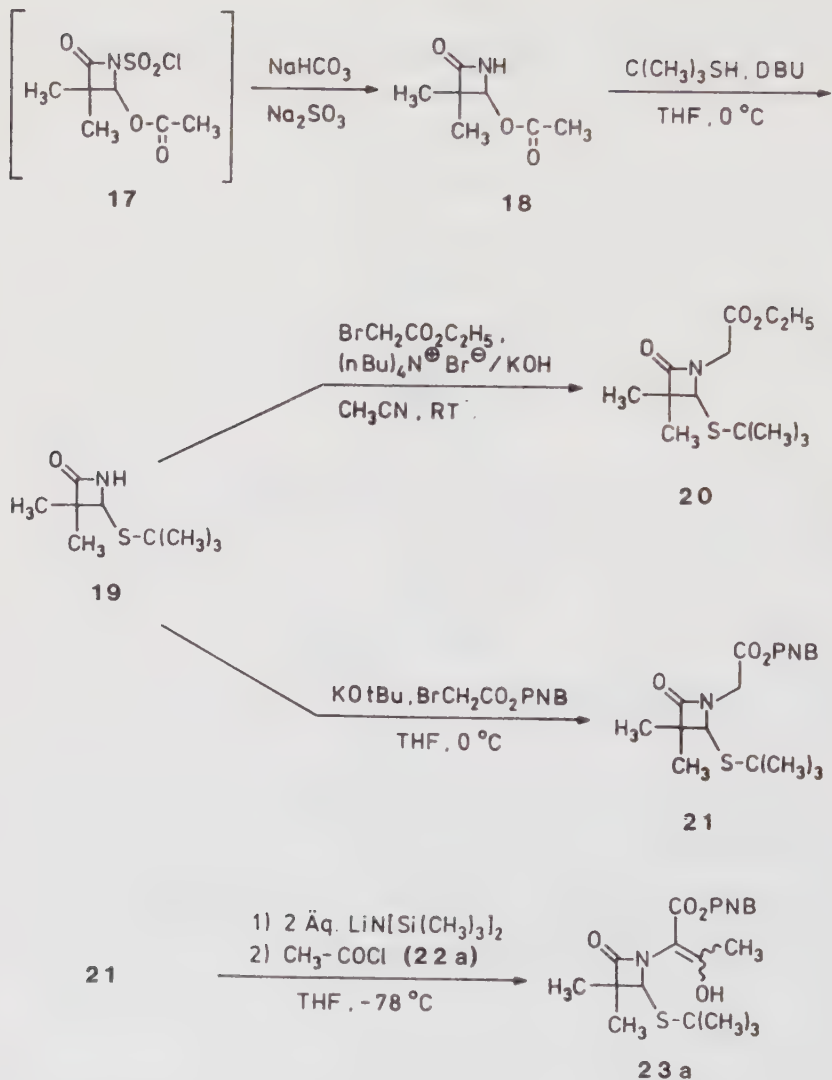


hergestellt, die dann unter geeigneten Bedingungen cyclisiert wurde.

4.1.1. Die Darstellung des Enols

Das Enol 23 a als Vorstufe des Oxapenems war auf dem folgenden Wege zugänglich :





Ausgangspunkt für die Synthese war der Isobutyraldehyd 15, der mit Acetanhydrid und Natriumacetat nach der Methode von Bedoukian^{31,32} Isobutenylacetat 16 in 61 % Ausbeute

lieferte. Dies bedeutete eine leichte Verbesserung gegenüber den Literaturangaben. Isobutylenglykoldiacetat als hochsiedendes Nebenprodukt ließ sich durch fraktionierte Destillation gut abtrennen. Die $[2+2]$ -Cycloaddition von 16 an Chlorsulfonylisocyanat erfolgte in literaturbekannter Weise³³ zum Chlorsulfonylazetidinon 17, das nicht isoliert wurde und nach Hydrolyse in einer wäßrigen Lösung von Natriumhydrogencarbonat und Natriumsulfit das Azetidinon 18 ergab. Während dieser zweistufigen Reaktionsfolge durften die Temperaturen niemals die 0 °C - Marke übersteigen, da sonst Zersetzungsreaktionen die Ausbeuten drastisch verminderten. Destillative Reinigung der Verbindung führte mehrfach in erheblichem Ausmaß zur Zersetzung, so daß schließlich eine chromatographische Reinigung, die 18 in 45 % Ausbeute lieferte, vorzuziehen war. Im folgenden Reaktionsschritt ließ sich die Acetoxygruppe in einer über das Azetidinium-Kation verlaufenden S_N1 -Reaktion problemlos durch die t-Butylthio-Gruppe austauschen. Die Reaktionsbedingungen unterschieden sich geringfügig von den in der Literatur beschriebenen. Dort wurden die Gruppen $-SCH_3$ oder $-SPh$ zu meist mithilfe der entsprechenden Thiolate im wäßrigen Milieu eingeführt. An diesem Punkt erfolgte ganz bewußt die Wahl des t-Butylthio-Restes aus Gründen, auf die an anderer Stelle noch eingegangen werden soll.

Die N-Alkylierung von 19 mit Bromessigsäure-p-nitrobenzylester³⁴ in Gegenwart von Kalium-t-butylat verlief in mäßigen Ausbeuten um 40 %. Literaturbekannt ist auch die

Verwendung von Lithium-bis-trimethylsilylamid²⁴, jedoch konnten Ausbeuten in der angegebenen Größenordnung nicht erreicht werden. Als weitere Basen verwenden verschiedene Autoren auch Natriumhydrid oder Isopropyl-cyclohexyllithiumamid^{16,17,23}.

Eine zuvor durchgeführte N-Alkylierung mit Bromessigsäureethylester unter bekannten Phasentransfer-Bedingungen^{35,36} hatte in guter Ausbeute zu 20 geführt. Die hier angewendeten Reaktionsbedingungen ließen sich aber nicht ohne weiteres auf den p-Nitrobenzylester übertragen. 20, eine bei Raumtemperatur flüssige Verbindung, konnte keine Zwischenstufe auf dem Weg zu Oxapenemcarbonsäuren sein mangels einer geeigneten Methode den Ethylester sauber und unter schonenden Bedingungen zu spalten. Darüberhinaus hätten mehrfache Reinigungen kleiner Mengen flüssiger Substanzen wie 20 die Synthese nicht unbedingt erleichtert.

Durch Acylierung an der aciden Methylengruppe von 21 mit Acetylchlorid in Gegenwart von 2 Äquivalenten Base nach der Vorschrift von Ihara²⁴ (die hier angewendeten Reaktionsbedingungen wurden ursprünglich von Bentley und Hunt in den Beecham-Laboratorien eingeführt^{18,23,37}) entstand schließlich ein untrennbares E/Z-Isomerengemisch des Enols 23 a.

Aufgrund der Möglichkeit zur Bildung von Wasserstoffbrücken war die Entstehung des E-Isomeren bevorzugt (das E/Z-Verhältnis ließ sich aus dem ¹H-NMR-Spektrum zu etwa 4,5 : 1 bestimmen). Ihara erwähnt in seiner Veröffentlichung für die von ihm dargestellten Verbindungen ein solches Ge-

misch nicht. Somit war die Schlüsselverbindung auf dem Weg zum Oxapenem hergestellt.

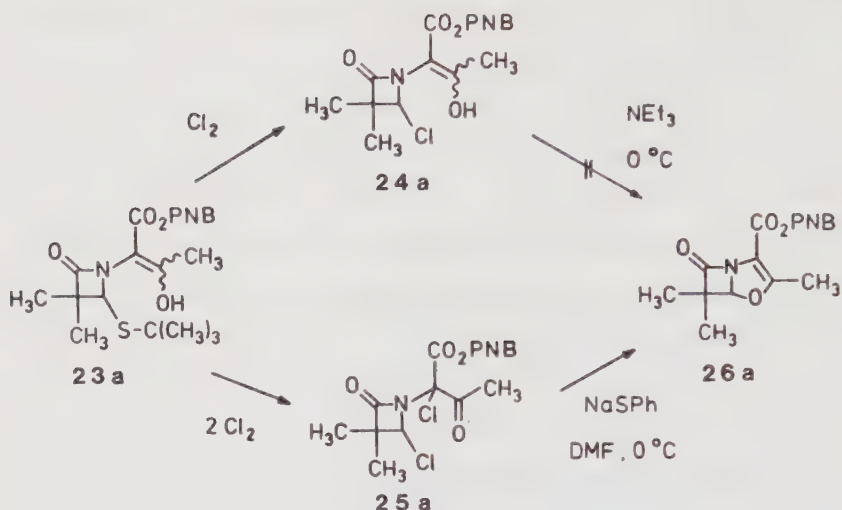
Versuche, durch eine N-Alkylierung mit α -Bromacetylsigsäure-p-nitrobenzylester unmittelbar von 19 zu 23 a zu gelangen, blieben erfolglos. Auch Eglington¹⁶ war eine vergleichbare einstufige Synthese mit dem Ethylester nicht gelungen. Sofern einstufige Enolsynthesen formuliert wurden¹⁷, waren die Ausbeuten bescheiden.

4.1.2. Die Cyclisierung des Enols

Ausgehend vom Enol 23 a kamen für die Darstellung des Oxapenems verschiedene Ringschlußreaktionen zur Erprobung. Teils handelte es sich um die bekannten Reaktionen, teils wurden Reaktionen aus der Synthese anderer β -Lactam-Verbindungen übertragen.

4.1.2.1. Das klassische Verfahren - Synthese des Oxapenems über die 4-Chloroazetidin-2-one

Wie bereits früher erwähnt (2.5.), standen zwei Methoden zur Auswahl, um vom Enol in einer Ringschlußreaktion über 4-Chloroazetidinone zur Zielverbindung 26 a zu gelangen :



Zum einen der Weg über das Monochlorid 24 a, das erste bekannte Verfahren zur Darstellung des Bicyclus, und zum anderen die Synthese über ein Dichlorid 25 a.

Beide Wege wurden auf ihre Anwendbarkeit hin überprüft. Da derartige Gasreaktionen nie völlig definiert verlaufen²⁰, u.a. infolge der Schwierigkeit die genaue stöchiometrische Menge einzusetzen, war die Reaktion schwer auf der Stufe des Monochlorids anzuhalten.

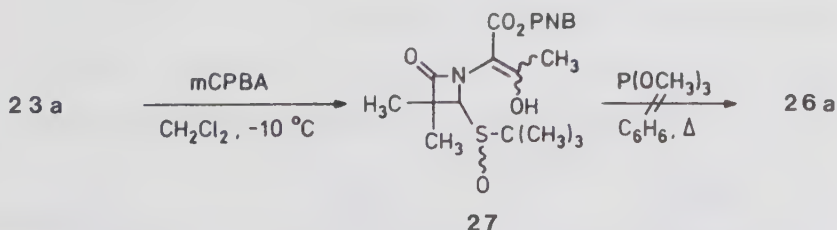
Die Durchführung der Chlorierungsreaktionen erfolgte jeweils so, daß eine Lösung von Chlor in Tetrachlorkohlenstoff hergestellt und deren Gehalt durch Auswaage bestimmt wurde. Zu keinem Ergebnis führte der Versuch, 23 a mit einem Äquivalent Chlor umzusetzen und das gebildete Chloroenol 24 a mit Triethylamin zu cyclisieren. Bereits hier gab es Hinweise auf das Vorliegen des Dichlorids.

Ein positives Resultat ließ sich erst bei der Umsetzung mit mehr als zwei Äquivalenten Chlor und der nachfolgenden Cyclisierung des nicht näher charakterisierten Zwischenproduktes mit Natriumthiophenolat erzielen. Chromatographie des Rohproduktes über Kieselgel lieferte 26 a in einer sehr mäßigen Ausbeute von 20 %. Wie sich erst im Laufe weiterer Versuche herausstellte, war im Fall dieser sehr labilen Verbindung Kieselgel ein wenig geeignetes Trägermaterial.

Insgesamt befriedigten diese Versuche nicht, so daß nach einer Methode Ausschau gehalten wurde, die einen Ringschluß unter besser definierten Bedingungen erlaubte.

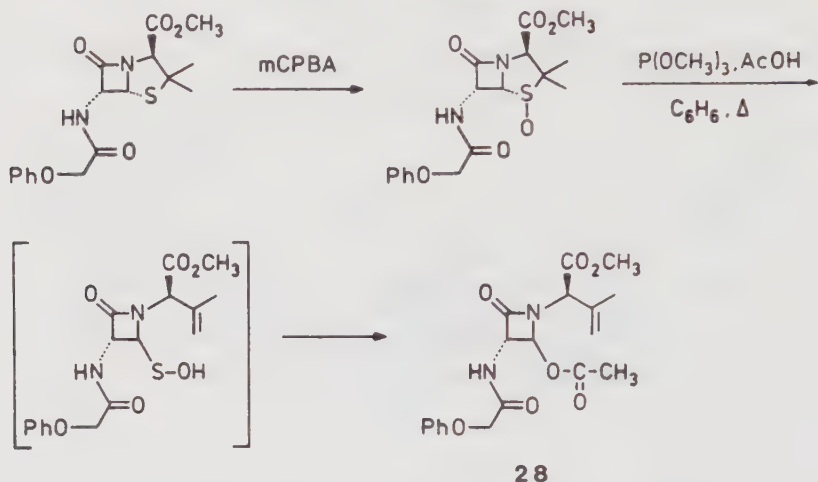
4.1.2.2. Ringschluß unter Vermeidung labiler Chloride?

Als Alternative zu den vorangegangenen Chlorierungen bot sich eine Synthese an, die unmittelbar von der Schwefelverbindung 23 a hätte ausgehen können und die Erzeugung der bekanntermaßen labilen Chloride erübrigt hätte :



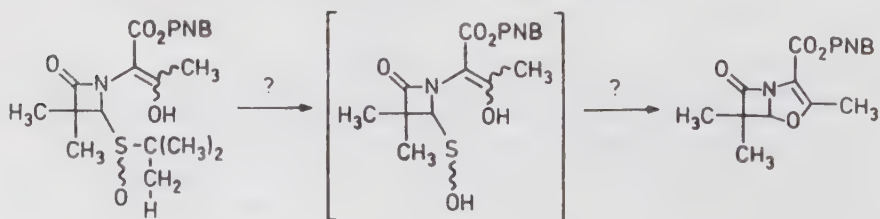
In der Möglichkeit einer solchen Reaktionsfolge lag auch die Einführung der t-Butylthio-Gruppe in das Azetidinon-Molekül begründet.

Die Idee dazu entsprang der Analogie zu einer von den Penicillinen her bekannten Reaktion^{38,39} :

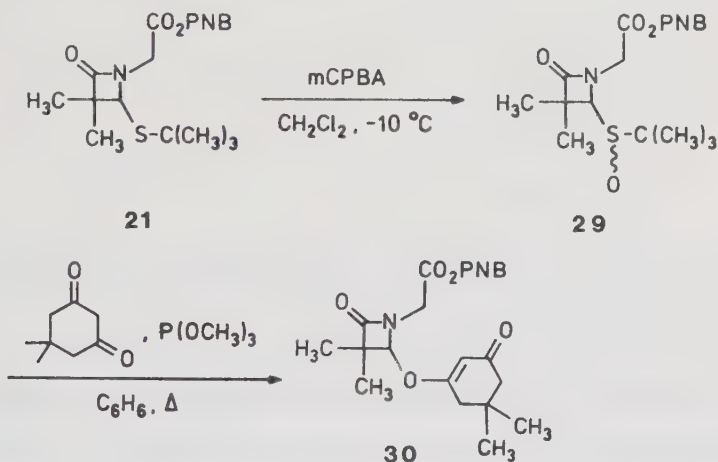


Acetoxyverbindungen des Typs 28 lassen sich in einer thermischen Abfangreaktion mit Trimethylphosphit und Essigsäure gezielt aus Penicillinsulfoxiden herstellen.

Es bestand nun auch im vorliegenden Beispiel eine gute Aussicht, daß nach Überführung des Enols 23 a in das Sulfoxid 27 unter den gleichen Reaktionsbedingungen durch Eliminierung von Isobuten und anschließendem intramolekularen Austausch der intermediär gebildeten Sulfensäure gegen die Enolatfunktion ein Ringschluß zu erreichen sei.



Zunächst erfolgte jedoch eine Untersuchung der Austauschbarkeit der Sulfinylgruppe gegen ein potentielles Enol anhand einer Modellreaktion.



Hierzu oxidierte man den Thioether 21 mit *m*-Chlorperbenzoesäure zu 29. Die nachfolgende Umsetzung dieses Sulfoxids mit Dimedon, einem potentiellen Enol, in Gegenwart von Trimethylphosphit ergab den Enolether 30 in 59 % Ausbeute.

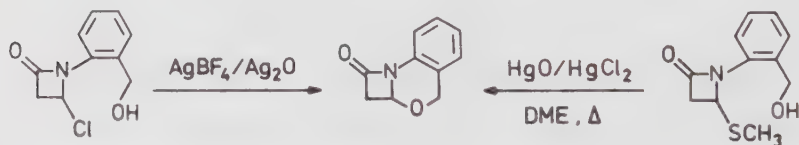
Nach der erfolgreichen Durchführung dieser Reaktion schien einer Übertragung auf die oben angegebene Reaktionssequenz nichts mehr im Wege zu stehen. Es gelang zwar das Enol mit *m*-Chlorperbenzoesäure zu 27 zu oxidieren, jedoch blieb dem Versuch, mit Trimethylphosphit den Ring zu schließen, der Erfolg versagt. Die Reaktion führte zu einem Gemisch verschiedener Produkte. Schon der dünnschichtchromatographische Vergleich mit einer authentischen Probe von 26 a zeigte an, daß das gewünschte Produkt nicht entstanden

war. Die Oxidation des Enols zu 27 ergab zwei isomere Sulf-oxide, die sich aufgrund ihrer sehr unterschiedlichen R_f -Werte leicht trennen ließen.

Blieb hiermit nun doch der Weg über die 4-Chlorazetidinone die einzige Möglichkeit vom Enol 23 a zum Oxapenem 26 a zu gelangen?

4.1.2.3. Eine alte Methode für neue Oxapeneme - die Cyclisierung mit HgO und HgCl₂

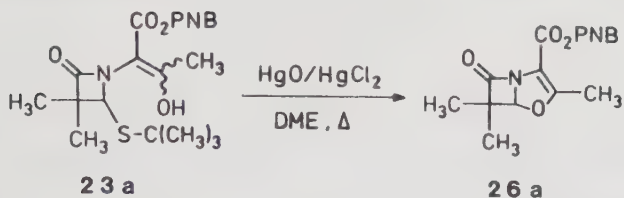
Eine Lösung erfuhr dieses Problem durch Auffinden einer Literaturstelle^{40,41}, die ein weiteres Verfahren für Ringschlußreaktionen, hier ausgehend von einem benzyllischen Alkohol, an β -Lactamen beschrieb.



Alternativ zur Cyclisierungsreaktion von Chloriden mit Silbersalzen, die auch bei der Synthese von Oxapenemen erfolgreich war, setzte Ongania ein Gemisch aus Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid für die Ringschlußreaktion ein. Letztere verlief allerdings in wesentlich schlechteren Ausbeuten als die Silbersalz-induzierte Cyclisierung.

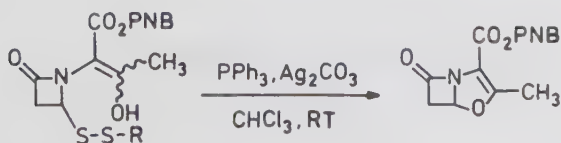
Somit stand eine Methode zur Verfügung, die ohne Umweg über labile Chloride unmittelbar vom Alkylthioazetidinon

zum Ringschlußprodukt führte. Ob diese Reaktion auch ohne weiteres auf die hochgespannten Oxapeneme übertragbar sei, war fraglich.



Bereits nach den ersten Testansätzen ließ sich diese Frage jedoch uneingeschränkt mit ja beantworten. Das Oxapenem 26 a ließ sich in einer eindeutig verlaufenden Reaktion durch Rückflußkochen des Enols in Dimethoxyethan mit einem Gemisch aus Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid in guten Ausbeuten gewinnen. Anstelle des Quecksilberchlorids konnte ebenso gut Quecksilberacetat eingesetzt werden. Dagegen erwies sich die alleinige Verwendung von Quecksilberoxid als weniger geeignet. Die Durchführung der Reaktion mit einem Silberoxid/Silberacetat-Gemisch ergab ebenfalls ein ziemlich einheitliches Produkt, bei dem es sich nicht um das Oxapenem handelte und dessen Identifizierung nicht gelang.

Bei späteren Patentrecherchen stellte sich heraus, daß die Firma Hoechst eine ähnliche Methode zur Synthese ausgehend von Disulfiden zum Patent angemeldet hatte⁴²⁻⁴⁴ :

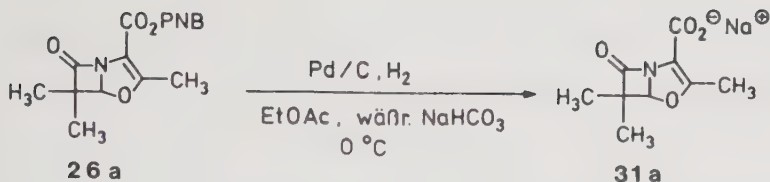


Dieses Verfahren hatte man auf verschiedene von Penicillin-Derivaten abgeleiteten Enole mit $R^3 = CH_3$ (vgl. 3.4.) angewendet. Der Patentanspruch wurde auf beliebige Polysulfide ausgeweitet. Eigene Versuche Verbindung 46 a (vgl. 5.1.3.1.) auch nach diesem Verfahren zu cyclisieren gelangen nicht mehr. Wie an anderer Stelle noch gezeigt wird, ließ sich die Cyclisierung mit Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid etwas allgemeiner verwenden.

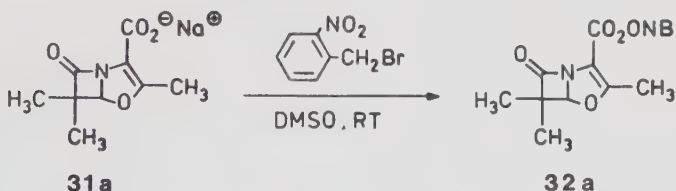
Der erste Oxapenemcarbonsäureester war synthetisiert. Bereits an seinem dünn-schichtchromatographischen Verhalten war zu erkennen, daß diese Verbindung nicht allzu stabil sein konnte, denn schon bei geringer Verweildauer auf einer noch trockenen Kieselgelplatte hinterließ sie merkliche Spuren der Zersetzung. In einer Lösung in Tetrachlorkohlenstoff war 26 a bei 0 °C über längere Zeit haltbar, ebenso im kristallinen Zustand.

4.1.3. Das Natriumsalz der 3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure und seine Hydrolyse

Von besonderem Interesse war nun die Hydrolysestabilität des Natriumsalzes von 26 a, das nach der üblichen Methode¹⁹ durch katalytische Hydrierung zugänglich war.



Der Nachweis dieses Salzes gelang nach Gefriertrocknung der erhaltenen wässrigen Lösung durch ein $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum in D_2O . Um das Salz auch chemisch nachzuweisen, sollte mit o-Nitrobenzylbromid eine Derivatisierung zum o-Nitrobenzylester 32 a erfolgen.



Diese Verbindung ließ sich nicht isolieren, sondern nur in noch verunreinigter Form $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch belegen. Schon ihr Verhalten auf der Dünnschichtplatte hatte gezeigt, daß sie eher noch labiler war als der entsprechende p-Nitrobenzylester. Die Isolierung eines analysenreinen o-Nitrobenzylesters als Nachweisprodukt für ein Oxapenem-carbonsäuresalz gelang erst später mit einer stabileren Verbindung.

Eine frisch hergestellte Lösung von 31 a fand zur Bestimmung der Hydrolysegeschwindigkeit in 0,067 m Phosphatpuffer bei pH 7,4 und $37\text{ }^\circ\text{C}$ Verwendung. Die UV-spektroskopisch er-

mittelte Halbwertszeit für die Hydrolyse dieses Salzes war mit 49 Minuten enttäuschend kurz und daher eine Bestimmung der biologischen Aktivität wenig sinnvoll.

4.1.4. pH-Abhängigkeit der Hydrolyse von 31 a

Um möglicherweise Informationen über den Mechanismus der Hydrolyse zu erlangen, wurde diese in 0,067 m Phosphatpufferlösungen verschiedener pH-Werte bzw. in 0,067 m Kaliumdihydrogenphosphat- und 0,067 m Dinatriumhydrogenphosphatlösung bei jeweils 37 °C durchgeführt.

Tab. 1 : Halbwertszeiten der Hydrolyse von 31 a bei verschiedenen pH-Werten (Messung bei $\lambda_{\max} = 258 \text{ nm}$)

pH	4,63	5,74	6,12	7,40	8,08	9,22
$t_{1/2}$ (Min.)	7	28	34	49	47	49

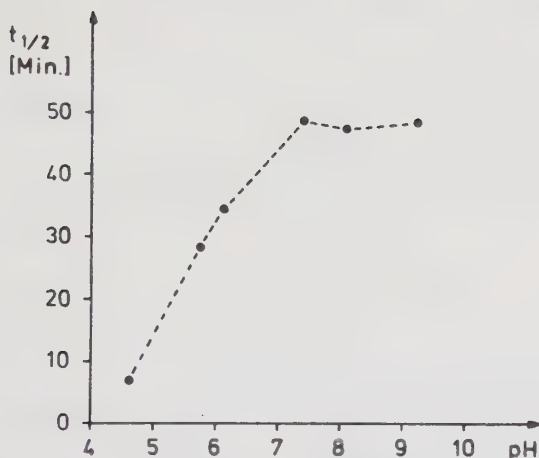


Abb. 3 : pH-Abhängigkeit der Hydrolyse

Wie Abb. 3 zeigt, nahm die Geschwindigkeit der Hydrolyse in saurer Umgebung rasch zu. Dies ist eine Erscheinung, die ganz allgemein bei β -Lactam-Derivaten zu beobachten ist. Eine Besonderheit stellt die innerhalb der Meßgenauigkeit konstante Halbwertszeit im alkalischen Bereich dar. Zumeist nimmt auch hier die Stabilität ab, so daß β -Lactame im allgemeinen ein Maximum an Stabilität in einem engen Bereich um den Neutralpunkt besitzen.

Nun enthält 31 a am C-5 eine Acetalstruktur. Da Acetale im alkalischen Milieu sehr stabil sind, könnte die gefundene Konstanz ein Indiz dafür sein, daß auch die Öffnung des Oxazolinrings an der Hydrolysereaktion maßgeblich beteiligt ist. Da Versuche, das Salz mit Natronlauge zu hydrolysieren

und dabei entstehende Produkte zu fassen, zu keinen sinnvollen Ergebnissen führten, muß dies aber letztlich der Spekulation überlassen bleiben.

In jedem Fall wird während der Hydrolyse der β -Lactam-Ring geöffnet. Dies ließen IR-Spektren später hergestellter Salze erkennen, wenn diese schon teilweise hydrolysiert waren.

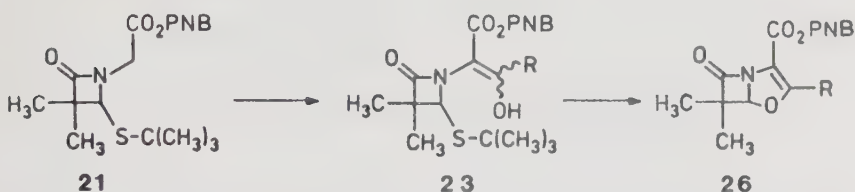
4.2. Synthesen stabilerer Oxapeneme

Das Salz der 3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure hatte sich als eine recht hydrolyseempfindliche Substanz erwiesen mit einer für eine praktische Verwendbarkeit völlig indiskutablen Halbwertszeit. Wie war nun der am Oxazolinring befindliche Substituent zu verändern, damit ein Vordringen in Bereiche sinnvoller Stabilitäten möglich wurde?

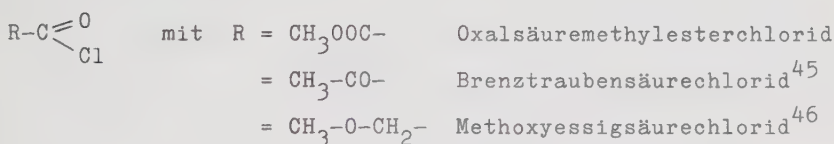
4.2.1. Sind elektronenziehende Gruppen die Lösung?

Über den Einfluß von Substituenten am C-3 ließen sich aus den vorhandenen Daten über Penem-Stabilitäten keine eindeutigen Schlüsse ziehen. So standen nach der Darstellung des ersten 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenems mehrere Versuche zur Einführung elektronenziehender Reste am Anfang weiterer synthetischer Bemühungen.

In der Reihenfolge abnehmenden Elektronenzugs gelangten für die Synthese von Oxapenemen ausgehend vom Essigsäurederivat 21



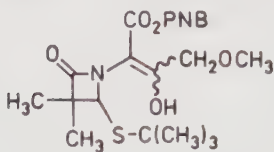
die nachstehenden Säurechloride zum Einsatz



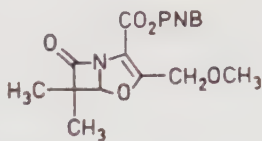
Im Falle der ersten beiden Säurechloride entstanden Enole (erkennbar an der Farbreaktion mit Eisen(III)chlorid-Lösung), die sich nur schlecht reinigen ließen (Schleifspuren im Dünnschichtchromatogramm). Setzte man die nach einer Chromatographie erhaltenen saubersten Fraktionen in die Cyclisierungsreaktion mit Quecksilber(II)oxid und Quecksilber(II)chlorid ein, so fand zwar eine auf dem Dünnschichtchromatogramm erkennbare, eindeutige Reaktion statt, dennoch waren keine Oxapeneme faßbar. Stark elektronenziehende Reste versagten in dieser Synthese. Auf eine Charakterisierung der Enole wurde daher kein großer Wert gelegt. Das aus der Reaktion mit Oxalsäuremethylesterchlorid erhaltene Enol ließ sich jedoch durch Umsetzung mit Diazomethan oder Diphenyldiazomethan in Form der entsprechenden Enolester, die

¹H-NMR-spektroskopisch rein isoliert wurden, nachweisen.

Hingegen stellte das Methoxymethyl-Enol 23 b



23 b



26 b

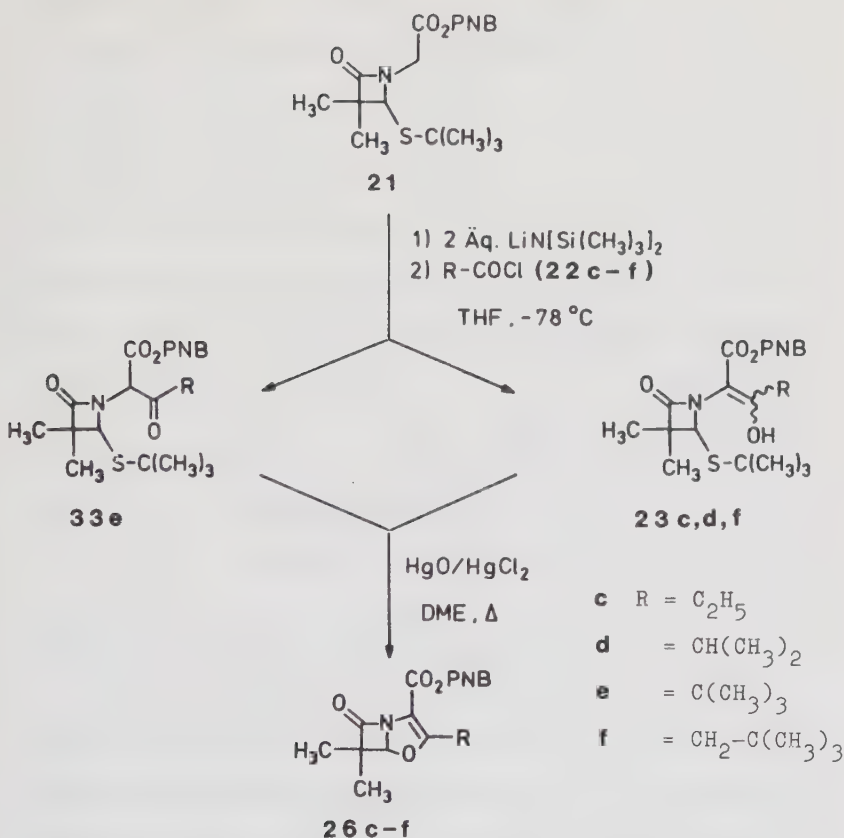
ein gut charakterisierbares Produkt dar. Diese Verbindung lag teils als Enol teils als Keton vor. Weder die Umsetzung des Enols mit Quecksilberverbindungen noch der Weg über die Chlorierung und reduktive Cyclisierung mit Natriumthiophenolat führten zur Isolierung von 26 b.

4.2.2. Die Einführung von Alkylgruppen am C-3 des Bicyclus

Nachdem alle Versuche, elektronenanziehende Reste am Oxazolinring einzuführen, gescheitert waren, blieb als mögliche Alternative, es mit induktiv elektronenschiebenden Resten - also Alkylgruppen - zu versuchen. Dieser Ansatz führte schließlich zum Erfolg.

4.2.2.1. Synthesen alkylsubstituierter Oxapenemcarbonsäure- ester

Ausgehend von 21



glückte in der bekannten zweistufigen Reaktionsfolge die Darstellung des Ethyl-, des Isopropyl-, des t-Butyl- und des Neopentyl-Derivates 26 c-f.

Die Produkte der C-Acylierung mit Säurechloriden zeigten jedoch bemerkenswerte Unterschiede hinsichtlich ihrer Struktur. Während bei Verwendung von Propionsäurechlorid 22 c und 3-Methylpropionsäurechlorid 22 d genau wie im Fall der Methylverbindung 23 a untrennbare Gemische aus E- und

Z-Isomerem in ungefähren Verhältnissen von 2 - 4 : 1 entstanden, lag die entsprechende t-Butyl-Verbindung ausschließlich in Form der ebenfalls untrennbaren, diastereomeren Ketone vor. Dieses sehr unterschiedliche Verhalten fand seinen Ausdruck sowohl im ^1H -NMR-Spektrum von 33 e, das statt des Enol-H die α -H der beiden diastereomeren Ketone aufwies, als auch im IR-Spektrum, in dem eine Carbonylbande eines gesättigten Esters bei 1755 cm^{-1} und eine Keto-Carbonylbande bei 1715 cm^{-1} auftraten. Diese Erscheinung war bisher nicht literaturbekannt.

Aus diesen beiden Strukturen resultierten einige weitere signifikante Unterschiede in physikalischen und chemischen Eigenschaften. Betrug der Extinktionskoeffizient für die Enole etwa 19000 - 21000, so lag der Wert für 33 e und einige später synthetisierte Ketone mit 11000 - 13000 deutlich niedriger. Die letzteren Werte stimmen überein mit p-Nitrobenzylestern ($\epsilon \sim 11000$) ohne weitere Chromophore. Eine Unterscheidung ermöglichte auch die Farbreaktion mit einer wäßrigen Eisen(III)chlorid-Lösung auf einer DC-Platte. Nur die Enole wurden intensiv rot angefärbt. 33 e zeigte wenig Neigung zur Enolisierung wie der erfolglose Versuch einer Umsetzung mit Mesylchlorid und Triethylamin verdeutlichte, die mit dem Methyl-Enol 23 a völlig problemlos verlief (siehe auch 6.).

Offensichtlich ist bei 33 e eine Ausbildung der planaren Enol-Struktur aus sterischen Gründen nicht mehr möglich.

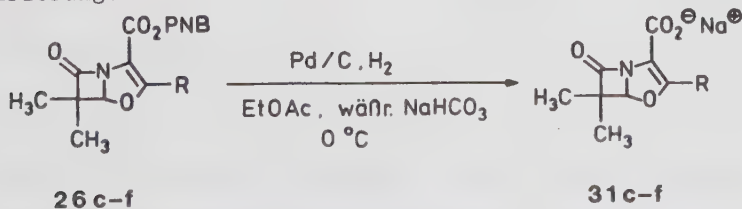
Ging man nun von der t-Butyl-Verbindung durch Einschub

einer Methylengruppe zur Neopentyl-Verbindung 23 f über, so lag diese wiederum allein in der Enolform vor.

In allen Fällen jedoch war der Ringschluß mit Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid unproblematisch. Das Keton erforderte lediglich etwas längere Reaktionszeiten. Die Reinigung dieser Verbindungen erwies sich als heikel. Kieselgel als Material für die Säulenchromatographie war zu aggressiv. Wie schon bei dem Oxapenem 26 a wurde auch hier mit der Verwendung von Florisil als Trägermaterial der höheren Stabilität der Oxapeneme im schwach alkalischen Bereich Rechnung getragen. Bis auf das Ethyl- und das Neopentyl-Derivat waren alle Oxapeneme kristallin.

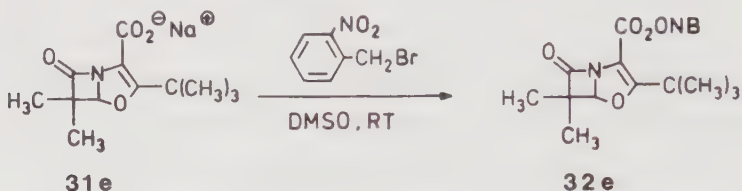
4.2.2.2. Die Hydrolyse der Natriumsalze

In analoger Weise zur Methylverbindung 31 a erfolgte die Darstellung der Oxapenemcarbonsäuresalze durch katalytische Hydrierung.



Ihr Nachweis gelang anhand von ^1H -NMR-Spektren in D_2O und bei stabileren Verbindungen auch durch IR-Spektren in KBr ($\nu_{\text{C=O}} = 1780 \text{ cm}^{-1}$). Das Salz 31 e wurde zusätzlich durch

Darstellung des o-Nitrobenzylesters 32 e belegt, der analysenrein isoliert werden konnte.



Einen Überblick über die UV-spektroskopisch ermittelten Halbwertszeiten für die Hydrolyse der hergestellten Oxapenemcarbonsäuresalze 31 c - e vermittelt Tabelle 2.

Tab. 2 : Halbwertszeiten der Hydrolyse verschiedener Oxapenemcarbonsäuresalze in Phosphatpuffer bei pH 7,4 und 37 °C

	R	$t_{1/2}$
<u>31 c</u>	C ₂ H ₅	70 Min.
<u>31 d</u>	CH(CH ₃) ₂	2,0 h
<u>31 e</u>	C(CH ₃) ₃	29,5 h

Wie man unschwer erkennen kann, nehmen die Stabilitäten obiger alkylsubstituierter Oxapeneme gegenüber dem Methyl-derivat mit zunehmender Kettenverzweigung zu, wobei der große Sprung in der gemessenen Halbwertszeit bei Übergang zur t-Butyl-Verbindung besonders ins Auge fällt. Auch das Neopentyl-Derivat weist eine gegenüber 31 e deutlich ver-

minderte Stabilität auf.

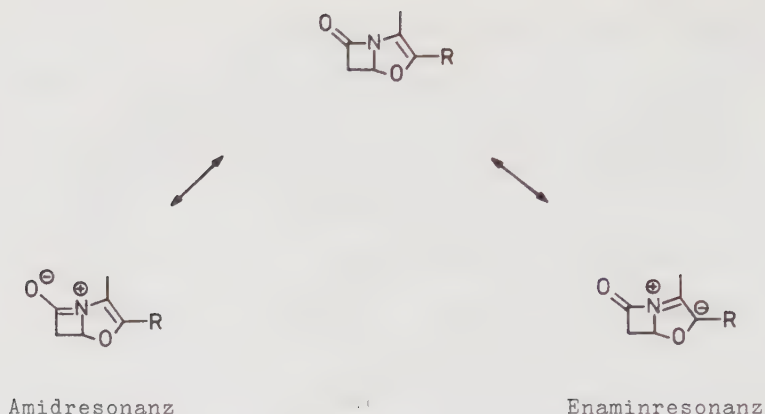
Diese beträchtlichen Stabilitätsunterschiede äußerten sich bereits im Verhalten der Oxapenemcarbonsäureester auf Kieselgelpplatten. Während beispielsweise das Ethyl-Derivat noch merklich empfindlich war, zeigte vor allem 31 e auch nach einigen Minuten Verweildauer auf der Platte im ange-trockneten Zustand keine Anzeichen der Zersetzung.

4.3. Ursachen der Stabilitätserhöhung - sterisch oder induktiv ?

Woher rührt nun der beobachtete große Stabilitätssprung von der Methyl- zur t-Butyl-Verbindung? Als Erklärungsmöglichkeiten sind zwei wichtige Faktoren zu diskutieren : elektronische Effekte und der sterische Einfluß von Substituenten am C-3.

4.3.1. Der induktive Effekt

Die Stabilisierung des Oxapenemskeletts durch die Einführung einer t-Butyl-Gruppe am C-3 läßt sich zwanglos erklären, wenn man sich die Resonanzmöglichkeiten des Bicyclus noch einmal vor Augen hält.



In der Enaminresonanz tritt ein freies Elektronenpaar in Nachbarschaft zum Substituenten R an der 3-Position. Elektronenschiebende Substituenten sollten diese negative Ladung destabilisieren und somit die Beteiligung der Enaminstruktur an der Resonanz zurückdrängen. Da die Enaminresonanz im Gegensatz zur Amidresonanz destabilisierend auf den Bicyclus wirkt, indem sie Ladungsdichte aus dem β -Lactam-Ring abzieht – also die Amidbindung schwächt –, sollte mit elektronenschiebenden Resten insgesamt eine Stabilisierung des Moleküls eintreten. Das heißt, es war für den Fall eines zunehmenden +I-Effektes von Alkylgruppen, wie dies für die untersuchte Reihe mit $R = \text{CH}_3$, C_2H_5 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ und $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ zutrifft, eine zunehmende Stabilisierung des Moleküls zu erwarten. Einen Beitrag dazu könnten Hyperkonjugationseffekte leisten. Der Übergang zu $R = \text{CH}_2\text{-C}(\text{CH}_3)_3$ hingegen bewirkte wieder eine Verminderung der Stabilität des Oxapenems, wie man dies bei Annahme einer induktiv elektro-

nisch verursachten Stabilisierung vermuten durfte.

Ob dieser Effekt allein zur Erklärung der doch recht erheblichen Stabilitätsunterschiede, insbesondere zwischen dem Isopropyl- und dem t-Butyl-Derivat, ausreichte oder ob nicht auch sterische Ursachen dafür verantwortlich waren, blieb fraglich. Zur Klärung dieses Punktes sollten Röntgenstrukturanalysen sowohl des 3-Methyl- als auch des 3-t-Butyl-oxapenemcarbonsäureesters beitragen. Es bestand die Hoffnung aus dem Vergleich der Daten wichtige Anhaltspunkte zu gewinnen.

4.3.2. Röntgenstrukturanalysen

4.3.2.1. Die höchste Pyramide - Ursache der Labilität von Oxapenemen

Mithilfe der Röntgenstrukturanalyse gelang es die Strukturen der kristallinen racemischen Oxapenemcarbonsäureester 26 a und 26 e zusätzlich abzusichern. Ausführlichere Daten enthält der experimentelle Teil.

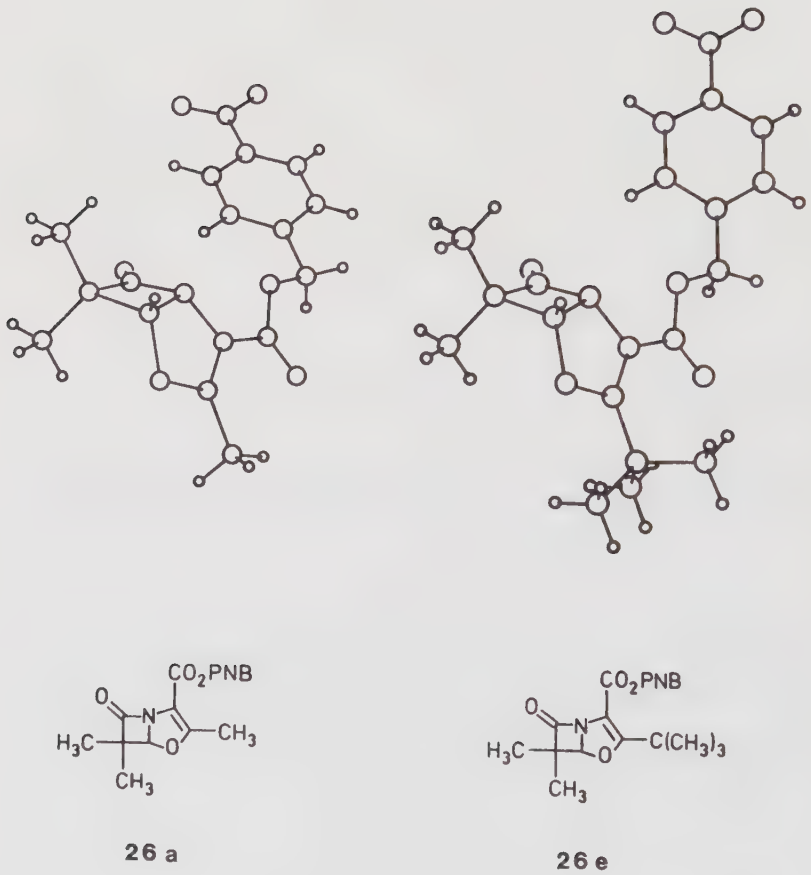
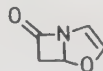
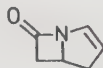
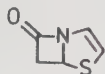


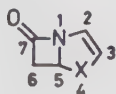
Abb. 4 : Strukturen von 26 a und 26 e

Da diese Verbindungen in enger struktureller Verwandtschaft zu den analogen bicyclischen β -Lactamen Penem und Carbapenem stehen,

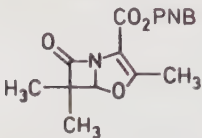
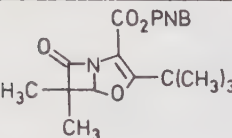
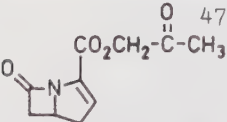
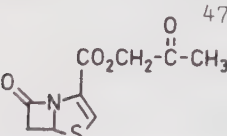
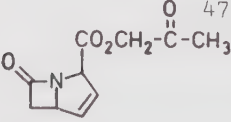


muß - wie schon eingangs erwähnt - die abnehmende Länge der C-X - Bindungen in der Reihe X = S, C, O zu einem zunehmend gespannten Fünfring und einer infolgedessen erhöhten Pyramidalisierung des β -Lactam-Stickstoffes führen. Die Röntgenstrukturanalysen bestätigten diese Erwartungen.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über C-X - Bindungslängen und Pyramidenhöhen von 26 a und 26 e sowie die Halbwertszeiten der zugehörigen Carbonsäuresalze und stellt sie denen analoger Peneme und Carbapeneme gegenüber. Zum besseren Vergleich erfolgt einheitlich für alle Verbindungen die Numerierung entsprechend der Bicyclen-Nomenklatur.



Tab. 3 : C-X - Bindungslängen^a, Pyramidenhöhen und Halbwertszeiten verschiedener bicyclischer β -Lactame

Verbindung	Bindungslängen (Å)		Höhe der Pyramide (Å)	$t_{1/2}^c$
	C(3)-X(4)	X(4)-C(5)		
	1,369/ 1,364 ^b	1,451/ 1,459 ^b	0,535	49 Min.
	1,383	1,456	0,529	29,5 Std.
	1,485	1,530	0,500	3 Std.
	1,749	1,848	0,441	20 Std.
	1,325	1,503	0,54	

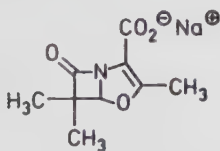
^a Maximale Standardabweichung 0,006 Å

^b Es wurden zwei Moleküle gleicher Struktur im Kristall berechnet.

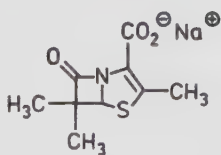
^c Halbwertszeiten der entsprechenden Carbonsäuresalze

Es zeigt sich, daß die Verkürzung der C-X - Bindung in der Reihe Penem, Carbapenem und Oxapenem zu einer erheblichen Erhöhung der Pyramide am N(1) führt. Die letztgenannte Substanzklasse erreicht mit 0,53 - 0,54 Å einen Maximalwert. Eine ähnlich hohe Pyramide findet sich nur im Δ^1 -Carbapenem. Dies verwundert nicht, wenn man die C-X - Bindungslängen miteinander vergleicht. Die Länge der C(3)-O(4) - Bindung entspricht nahezu derjenigen der Doppelbindung des Δ^1 -Carbapenems und auch die Werte für die O(4)-C(5) - bzw. C(4)-C(5) - Bindung weichen nur wenig voneinander ab.

Verbunden mit dieser zunehmenden Pyramidalisierung des β -Lactam-Stickstoffs in der Reihe Penem-Carbapenem-Oxapenem ist eine aus der Tabelle offenkundige Abnahme der Hydrolysestabilität der entsprechenden Carbonsäuren bzw. Carbonsäuresalze. Welch enormer Stabilitätsverlust in dieser Reihe von Verbindungen stattfindet, belegt die folgende Gegenüberstellung.



31 a



Während 31 a eine Halbwertszeit von 49 Minuten aufweist, ist das identisch substituierte Penem hydrolysestabil.

Erklärt werden kann dieser Unterschied eigentlich nur mit einer verstärkten Bedeutung der Enaminresonanz in der Sauerstoffverbindung (vgl. 2.4.), denn die zunehmende Pyramidali-

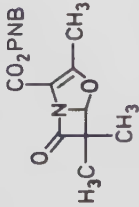
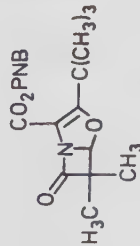
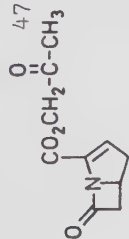
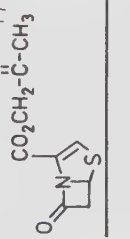
sierung des Stickstoffs sollte eine Behinderung sowohl der Amidresonanz als auch der Enaminresonanz zur Folge haben. Vergleicht man nun die Längen aller an den beiden Resonanzstrukturen beteiligten Bindungen (Tab. 4), so erkennt man keine signifikanten Unterschiede (meist innerhalb der Standardabweichungen), die eine Deutung der abnehmenden Stabilität in der Reihe Penem-Carbapenem-Oxapenem erlauben. Vielleicht sind nur sehr geringe Differenzen entscheidend, zumal auch die Peneme und Carbapeneme im Vergleich zu den klassischen bicyclischen β -Lactam-Antibiotika weitaus reaktivere Verbindungen darstellen.

In die gleiche Richtung weisen die gemessenen Frequenzen der Carbonyl-Streckschwingung. Auch hier lassen die Daten keinen Schluß auf einen etwaigen höheren Doppelbindungscharakter und eine entsprechend schwächere Stabilisierung durch die Amidresonanz zu.

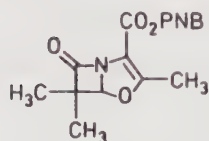
Grundsätzlich könnte die Ursache des Stabilitätsunterschiedes auch in der Labilität des Enolethers zu suchen sein, jedoch wurde die Öffnung des Fünfrings nicht bewiesen.

Lediglich im Vergleich zu den Penicillinen und Cephalosporinen wird die wesentlich höhere Reaktivität obiger drei Substanzklassen auch in den Carbonylfrequenzen bzw. den Bindungslängen der $O=C$ - und der $C-N$ -Bindung deutlich, die bei ersteren verlängert bzw. verkürzt sind und auf die stärkere Stabilisierung durch Amidresonanz hinweisen.

Tab. 4 : Vergleich der Carbonyl-Streckschwingungsfrequenzen und der Längen der an Amid- und Enaminresonanz beteiligten Bindungen verschiedener β -Lactame

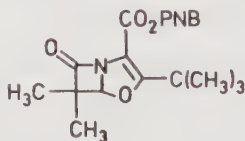
	$\nu_{C=O}$	O-(7)	C(7)-N(1)	N(1)-C(2)	C(2)-C(3)
	1805	1,196/ 1,198	1,420/ 1,417	1,437/ 1,434	1,341
	1797	1,197	1,421	1,451	1,357
	1785	1,194	1,419	1,438	1,359
	1798	1,204	1,419	1,427	1,330
Penicilline ^{14,15} 	1770 - 1780 1764 - 1776	1,20 1,21	1,37 1,38	1,46 1,40	
Cephalosporine					

Vergleicht man den ungesättigten Bicyclus mit entsprechenden Clavulansäure-Derivaten, so unterscheiden sich die Pyramidenhöhen beider Verbindungsklassen nur wenig.



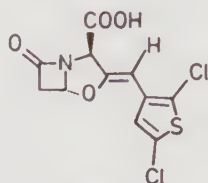
26 a

0,535



26 e

0,529



34

0,52 Å

Mit 0,52 Å kommt die Pyramidenhöhe von 34^{21,48} derjenigen der Oxapeneme nahezu gleich. Auch hier wird die stabilisierende Amidresonanz im Vergleich zum Penicillin geschwächt.

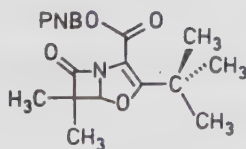
Die hohe Reaktivität der Oxapeneme findet ihren Ausdruck in der bekannt hohen C=O-Streckschwingungsfrequenz im Infrarotspektrum (sie schwankte bei den hergestellten Verbindungen zwischen 1797 cm^{-1} und 1805 cm^{-1}). Die Labilität der Oxapeneme wurde durch die Daten der Röntgenstrukturanalyse hinreichend erklärt. Die gefundenen Bindungslängen für die C=O-Bindung des β -Lactams gehören zu den kürzesten, diejenigen für die C-N-Bindung zu den längsten bekannten.

4.3.2.2. Methyl- oder t-Butyl- : Worin besteht der Unterschied?

Von primärem Interesse war jedoch die Frage, ob die Röntgenstrukturanalyse eine Erklärung für die Stabilitätsunterschiede zwischen 26 a und 26 e zu liefern vermochte. Ließen sich aus den erhaltenen Daten vielleicht strukturelle Besonderheiten ableiten, die neben der Reduzierung des Stabilitätsproblems auf einen rein induktiven Effekt auch auf andere, vor allem sterische Einflüsse als wahrscheinliche Ursache für die durch die t-Butyl-Gruppe bewirkte Stabilitätserhöhung hindeuteten?

Der Vergleich der in den Tabellen 3 und 4 angegebenen Bindungslängen zeigt keine auffallenden Unterschiede, die als Erklärung dienen könnten. Diese Feststellung gilt gleichermaßen für alle anderen nicht aufgeführten Bindungslängen und die Bindungswinkel. Die auftretenden Abweichungen sind zumeist unbedeutend.

Die Möglichkeit des sterischen Einflusses der t-Butyl-Gruppe auf die Stabilität sei an dieser Stelle kurz diskutiert.



26 e

Einige Ergebnisse der Röntgenstrukturanalyse, auf die im folgenden noch eingegangen werden soll, sind in der obigen Struktur von 26 e wiedergegeben.

Eine Hypothese ging von der Vermutung aus, daß die am C-3 befindliche t-Butyl-Gruppe eine Verdrillung der an der C=C-Doppelbindung beteiligten p-Orbitale des C(2) und des C(3) verursachen könnte. Dies hätte eine Behinderung der Überlappung der Orbitale mit dem freien Elektronenpaar des Stickstoffs zur Folge und würde den Anteil der Enaminresonanz, die ja destabilisierend auf das β -Lactam wirkt, gegenüber der Methylverbindung zurückdrängen. Die Röntgenstrukturanalyse bestätigte diesen Verdacht nicht. In beiden Fällen betrugen die Torsionswinkel zwischen den Substituenten der Doppelbindung nicht mehr als 2° bzw. nicht weniger als 178° . Die Abweichung von der Planarität war also gering. Lediglich die C(3)-O(4) - Bindung war in 26 e etwas stärker (3°) verdreht.

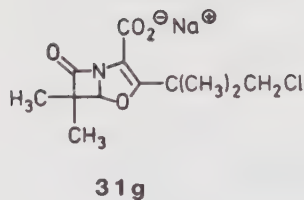
Wie zu erwarten, lag das gesamte aus Carboxylgruppe, Doppelbindung und deren Nachbaratomen bestehende Bindungssystem nahezu in einer Ebene, wobei die Carbonylgruppe in Richtung des Substituenten am C-3 weist. Aus den Torsionswinkeln ergab sich für 26 e eine gestaffelte Stellung der Carbonylgruppe bezüglich zweier Methylgruppen des t-Butyl-Restes. Dies war vermutlich auch die Ursache einer im Vergleich zu 26 a um $3 - 4^\circ$ stärkeren Verdrehung der Carboxylgruppe gegenüber der Ebene der Doppelbindung. Man könnte sich vorstellen, daß auch im Salz die Carboxylatgruppe auf-

grund dieser gestaffelten Konformation in ihrer Drehbarkeit eingeschränkt wird und die Amidbindung besser gegen einen nukleophilen Angriff abschirmt. Zudem ist die Carboxylatgruppe um etwa 3° stärker zum β -Lactam-Stickstoff hin geneigt. Als Erklärung dürfte dies nicht ausreichen.

Die vorangegangenen Ausführungen zeigen, daß sich eine auf sterischen Wechselwirkungen beruhende Stabilisierung mithilfe der Röntgenstrukturanalyse kaum belegen ließ. Allerdings kann ein sterischer Einfluß des Substituenten insbesondere dann nicht ausgeschlossen werden, wenn die Öffnung des Oxazolinrings die Hydrolysereaktion maßgeblich bestimmen sollte.

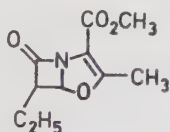
4.3.3. Der Einfluß von Gruppen mit großem -I - Effekt im Alkylrest - Synthese des Natriumsalzes der 3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure

Um vielleicht doch noch eine Entscheidung zugunsten der einen oder anderen Hypothese treffen zu können, erfolgte die Einführung einer elektronenziehenden Gruppe in den sterisch anspruchsvollen t-Butyl-Rest. Ausgehend von 21

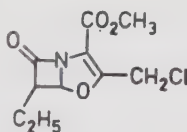


Mit einer Halbwertszeit von 9,0 Stunden war 31 g bereits wieder deutlich weniger stabil als 31 e. Der Ersatz eines

H-Atoms durch ein Chloratom erniedrigte die Halbwertszeit auf ein Drittel. Das ist ein in Anbetracht der Entfernung des Chloratoms zur Amidbindung erheblicher -I - Effekt. Wären in erster Linie sterische Effekte für die Stabilisierung des Oxapenemgerüsts verantwortlich, hätte man wohl eine vergleichbare Halbwertszeit erwarten können, zumal die Raumbeanspruchung des Substituenten noch größer ist. Die Auswirkungen des -I - Effektes spiegeln sich auch in Beobachtungen von Ihara²⁴ wider, der die beiden folgenden Oxapenemcarbonsäureester synthetisierte.



35



36

Während 35 als ausreichend stabil bei Normalbedingungen beschrieben wird, führt das 24stündige Stehenlassen einer Lösung von 36 bei Raumtemperatur schon zu dessen Zersetzung.

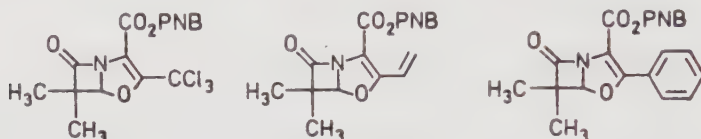
Aufgrund der in diesem Kapitel geschilderten Ergebnisse und der vorangegangenen Erörterungen kann zusammenfassend Folgendes gesagt werden :

Induktive Effekte spielen für die Stabilisierung des Moleküls durch den Substituenten am C-3 eine entscheidende Rolle.

Sterische Einflüsse können nicht ausgeschlossen werden, waren aber auch nicht zu belegen.

4.4. Weitere Versuche

Neben den bisher beschriebenen Synthesen gab es auch Bestrebungen folgende Verbindungen herzustellen :



Es gelang jedoch weder die Einführung des Trichlormethylrestes - dies war wohl angesichts des extrem hohen $-\text{I}$ - Effekts auch nicht zu erwarten - noch die Einführung konjugierter Doppelbindungen am C-3. In allen Fällen scheiterte die Synthese bereits auf der Vorstufe des Enols. Reagierete Acrylsäurechlorid gar nicht mit 21, so führten Trichloracetylchlorid und Benzoylchlorid zwar zu dünnschichtchromatographisch nachweisbaren Umsetzungen, aber die Reaktionsprodukte veränderten sich bereits während der Aufarbeitung.

Auch von der Einführung eines Phenylrestes durfte eigentlich keine Stabilisierung erwartet werden, wie eine Betrachtung der Resonanzstrukturen des Oxapenems zeigt. Während die Amidresonanz von der Anwesenheit des Phenylrings weitgehend unberührt bleibt, wird die Enaminresonanz durch die Stabilisierung der negativen Ladung infolge der Einbeziehung des Phenylrings in die Mesomerie begünstigt. Aufgrund der destabilisierenden Wirkung der Enaminresonanz mußte daher eine gegenüber dem Methyl-Derivat verminderte Stabilität erwartet werden, sofern nicht noch andere Effekte zum Tragen

kämen. Für die Vorstufe, das Enol, ist diese Aussage in ähnlicher Weise gültig. In der Tat zeigt auch in der Reihe der Peneme der phenylsubstituierte Bicyclus gegenüber dem methylsubstituierten eine um den Faktor 4 verminderte Hydrolysestabilität.^{26,28}

4.5. Untersuchungen der biologischen Aktivität verschiedener 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuresalze

Die drei stabilsten Oxapenemcarbonsäuresalze wurden im folgenden mit Hilfe von Agar-Diffusions-Tests auf ihre biologische Wirksamkeit hin untersucht. Hier waren wegen der vergleichsweise langen Halbwertszeiten die Voraussetzungen für eine ausreichende Diffusion auf Bakterien-Agar-Platten in jedem Fall gegeben. Für die Bestimmung der antibakteriellen Aktivität fanden folgende Keime Verwendung : der nicht-resistente *Staphylococcus aureus* DSM 1104 sowie die β -Lactamase produzierenden Stämme *St. aur.* 23824 und *St. aur.* 012484/77 als Vertreter grampositiver Bakterien und aus der Gruppe gramnegativer Bakterien der nichtresistente *E. coli* DSM 1103.

Als Maß für die Wirksamkeit der getesteten Verbindungen dienten die Durchmesser der Hemmhöfe in Millimeter. Um ihre Wirksamkeit mit der bekannter β -Lactam-Antibiotika vergleichen zu können wurde Penicillin V als Referenzsubstanz auf-

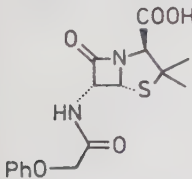
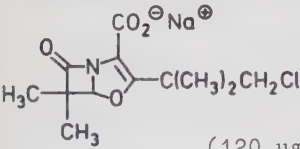
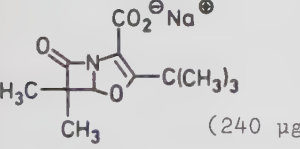
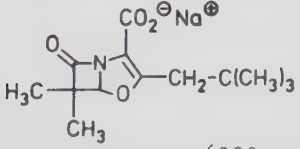
getragen. Lösungen der Oxapenemcarbonsäuresalze 31 e - g wurden vor Beginn der Tests jeweils frisch aus den entsprechenden p-Nitrobenzylestern durch hydrogenolytische Spaltung hergestellt.

4.5.1. Antibakterielle Aktivität

Die Bestimmung der antibakteriellen Aktivität der Oxapenemcarbonsäuresalze erfolgte im direkten Vergleich zu Penicillin V als Referenzsubstanz durch Auftragung jeweils gleicher Substanzmengen auf die Testplatten. Tabelle 5 faßt die Ergebnisse der Tests zusammen.

Tab. 5 : Antibakterielle Wirksamkeit 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuresalze im Vergleich zu Penicillin V

Hemmhofdurchmesser (mm)

	S. aur. DSM 1104	S. aur. 23824	S. aur. 012484/77	E.coli
 (250 µg) Penicillin V	48	11	8	11
 (120 µg) 31 g	32	29	28	Ø
 (240 µg) 31 e	29	24	23	Ø
 (230 µg) 31 f	29	19	20	Ø

Aus den gefundenen Hemmhofdurchmessern lassen sich mehrere Schlüsse über die biologische Aktivität 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuresalze ziehen :

Sie sind wirksame Substrate der an der Zellwandsynthese beteiligten Enzyme, jedoch viel weniger wirksam als Penicillin, ein natürliches Substrat.

Sie sind wirksam sowohl gegen nichtresistente als auch gegen Penicillin-resistente grampositive Keime wie Staphylococcus aureus. Allerdings nimmt die Aktivität gegen resistente Bakterien ab.

Sie sind vollständig inaktiv gegen gramnegative Bakterien wie E. coli.

Ganz interessant ist der Vergleich der verschiedenen Salze untereinander. Während die getesteten Verbindungen gegen nichtresistente Staphylokokken nahezu gleiche Wirkung zeigten, trat bei den resistenten Keimen eine stärkere Differenzierung auf. Man erkennt eine abnehmende Wirksamkeit in der Richtung 31 g > 31 e > 31 f.

In jedem Fall ist 31 g das wirksamste der untersuchten Oxapenemcarbonsäuresalze. Dies ist wohl eine Folge der am Substituenten befindlichen polaren Gruppe, die dem Molekül möglicherweise einen besseren Zutritt zu den membrangebundenen Zielenzymen erlaubt. Der sperrige Rest in der C-3-Position scheint sich auf die Wirksamkeit nicht unbedingt negativ auszuwirken.

31 e - g stellten die ersten wirksamen dimethylsubstituierten β -Lactame dar.

4.5.2. β -Lactamase-Hemmung

In der Literatur finden sich widersprüchliche Angaben hinsichtlich der Wirkung von Oxapenemcarbonsäuresalzen als β -Lactamase-Inhibitoren.

Zur Untersuchung der Inhibitoreigenschaften der synthetisierten 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbonsäuresalze wurden weitere Tests an den gegen Penicillin resistenten Stämmen 23824 und 012484/77 von *Staphylococcus aureus* durchgeführt. Hierbei wurden jeweils gleiche Substanzmengen von Penicillin V, Oxapenemcarbonsäuresalz und eines 1 : 1 - Gemisches aus beiden auf die Bakterien-Agar-Platten aufgebracht und die gebildeten Hemmhöfe miteinander verglichen. Penicillin V blieb gegen resistente Staphylokokken wirkungslos, während Oxapenemcarbonsäuresalze mäßige Aktivität entwickelten. Sollten nun die getesteten Verbindungen zur Inhibierung der von den resistenten Keimen erzeugten β -Lactamase fähig sein, dann sollten sie diese irreversibel acylieren und damit den weiteren Angriff auf das Penicillinmolekül blockieren. Letzteres könnte dann seine antibakterielle Wirkung voll entfalten. Demnach sollte der Hemmhof eines Penicillin V/Oxapenemcarbonsäuresalz-Gemisches einen größeren Durchmesser aufweisen als der des getesteten Salzes.

Tab. 6 : Tests auf β -Lactamase-Hemmung

	Hemmhofdurchmesser (mm)	
	Staph. aureus 23824	Staph. aureus 012484/77
Penicillin V (250 μ g)	11	8
31g (120 μ g)	29	28
Pen.V + 31g (150 + 70 μ g)	28	26
31e (240 μ g)	25	26
Pen.V + 31e (250 + 240 μ g)	26	29
31f (230 μ g)	19	21
Pen.V + 31f (150 + 140 μ g)	23	20

Aus den geringen Unterschieden der Hemmhofdurchmesser, die meist im Bereich der Ablesungenauigkeit liegen, lassen sich für die getesteten Verbindungen inhibitorische Eigenschaften nicht herleiten. Vielmehr muß davon ausgegangen werden, daß die 6,6-dimethylsubstituierten Oxapenemcarbon-säuresalze nicht als β -Lactamase-Inhibitoren wirken. Dies stünde auch in Übereinstimmung mit einer von Coulson und Knowles vertretenen Theorie^{49,50}, nach der wirksame β -Lactamase-Inhibitoren mit einem der Clavulansäure ähnlichen Hemm-Mechanismus über ein α -H am C-3 des β -Lactam-Rings

verfügen sollten. Im Widerspruch dazu stehen aber Berichte von Ernest^{51,52} über eine β -Lactamase-Hemmung durch 6,6-dimethylsubstituierte Peneme.

4.6. Zusammenfassung und Folgerungen

Innerhalb der Reihe dimethylsubstituierter Oxapeneme wurde ein erstes Ziel dieser Arbeit erreicht. Es gelang die Synthese vergleichsweise stabiler Verbindungen, die sich im Hinblick auf ihre biologischen Eigenschaften gut untersuchen ließen. Diese Verbindungen zeigten jedoch nur eine mäßige antibakterielle Aktivität. Eine Inhibierung von β -Lactamasen konnte nicht beobachtet werden.

Im Gegensatz zu diesen synthetischen disubstituierten β -Lactam-Derivaten besitzen wirksame natürliche β -Lactam-Antibiotika in der gleichen Position im allgemeinen nur einen Substituenten. Vermutlich wird durch die Anwesenheit zweier, zudem unpolarer, Methylgruppen die Bindung an das Zielenzym erschwert und damit die biologische Wirksamkeit beeinträchtigt.

Es blieb also zu hoffen, daß beim Übergang in die Reihe monomethylierter bzw. nichtmethylierter Oxapeneme eine verbesserte Aktivität bei einer ausreichenden Stabilität erzielt werden konnte. Entsprechend der Theorie von Knowles müßte das Molekül dann auch Eigenschaften eines β -Lactamase-Inhibitors aufweisen, wie dies von einigen Autoren beschrieben wurde.

5. Wege zu stabilen 6-methylsubstituierten und unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuren?

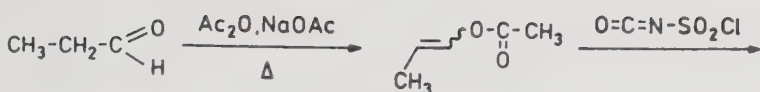
Um nun auch den Einfluß der Substituenten am C-6 auf das Oxapenemgerüst untersuchen zu können, erfolgte die Darstellung einiger monomethylierter und am C-6 unsubstituierter Oxapenem-Derivate. Sollte sich der bei den Penemen zu beobachtende Substituenteneffekt hier in gleicher Weise auswirken, so war mit erheblich verminderten Stabilitäten zu rechnen. Deshalb wurden als Syntheseeziele von vorneherein nur diejenigen am C-3 substituierten Systeme gewählt, die sich innerhalb der Dimethylverbindungen als die stabilsten erwiesen hatten.

5.1. Synthese zweier 6-methylsubstituierter Oxapeneme

Die Darstellung monomethylierter Oxapeneme folgte weitgehend dem aus 4.1. bekannten Syntheschema.

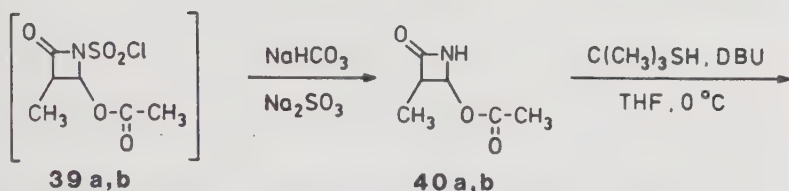
5.1.1. Die Darstellung der gemeinsamen Vorstufe

Wiederum bestand die Zwischenstufe in einem Azetidinyl-essigsäure-Derivat, das ausgehend von Propionaldehyd in mehrstufiger Synthese zugänglich war.



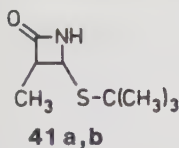
37

38 a,b



39 a,b

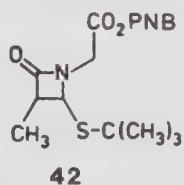
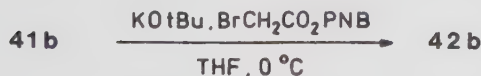
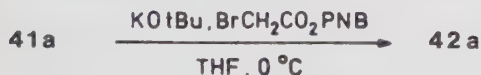
40 a,b



41 a,b

a = trans

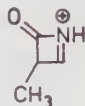
b = cis



42

Im ersten Schritt erfolgte die Herstellung des Essigsäure-1-propenylesters (ein 1:1 - Gemisch des cis- und des trans-Isomeren), wobei sich die von Curtin und Hurwitz^{31,53} mit 12 % angegebene Ausbeute immerhin auf 30 % steigern ließ. In der literaturbekannten [2+2] -Cycloaddition mit Chlorsulfonylisocyanat lieferte 38 nach Hydrolyse der nichtisolierten Zwischenstufe das Azetidinon 40³³. Auch hier gelang eine Verbesserung der Ausbeute um etwa ein

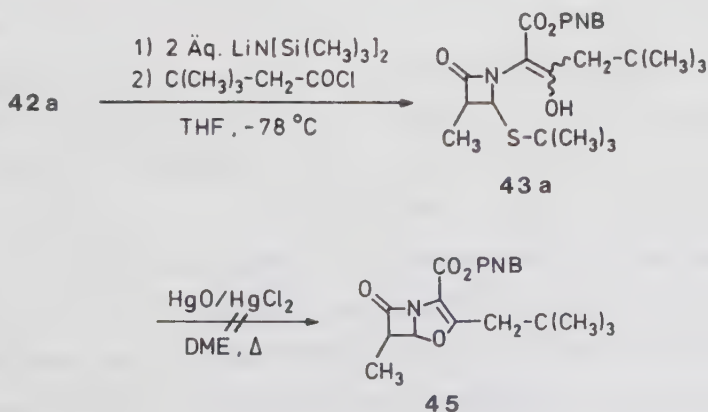
Drittel. Cis- und trans-Isomeres entstanden in einem Verhältnis von etwa 4,3 : 1. Die Umsetzung eines beliebigen Isomerengemisches von 40 mit t-Butylmercaptan in Gegenwart von DBU zum t-Butylthioazetidinon 41, eine über das Azetidinium-Kation verlaufende S_N1 -Reaktion,



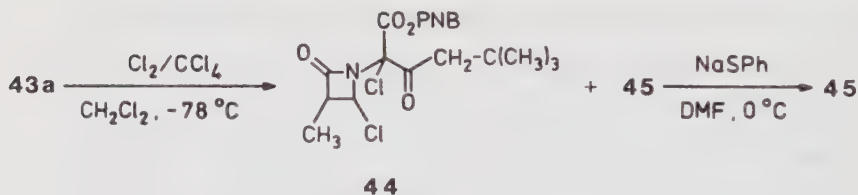
führte infolge der sterischen Hinderung überwiegend zum trans-Isomeren 41 a. Der Anteil an cis-konfiguriertem Produkt belief sich auf nur etwa 10 %. Unter erheblichem chromatographischem Aufwand gelang die Trennung der sich in ihren R_f -Werten nur wenig unterscheidenden Isomeren. Die N-Alkylierung von 41 a unter der Einwirkung von Kalium-t-butylat ergab ausschließlich das trans-Produkt 42 a und verlief mit einer sehr mäßigen Ausbeute von 33 %. Bessere Ausbeuten ließen sich bei Verwendung von Lithium-bis-trimethylsilylamid als Base und Durchführung der Reaktion bei tiefer Temperatur erzielen. Zum Vergleich, insbesondere der physikalischen und spektroskopischen Daten wurde die Reaktion auch mit dem cis-Isomeren durchgeführt. Es entstand in ebenfalls eindeutiger Weise das cis-Azetidinon 42 b. Bedeutung für die weitere Synthese erlangte nur 42 a.

5.1.2. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6-methyl-7-oxo-4-oxa-
1-azabicyclo[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-
p-nitrobenzylester als Modellverbindung

Aus zweierlei Gründen wurde zunächst versucht, das gegenüber einer t-Butyl-Verbindung instabilere Neopentyl-Derivat (siehe unten) zu synthetisieren : zum einen um an diesem Beispiel Methodik und Bedingungen der Cyclisierungsreaktion zu testen und zum anderen um festzustellen, inwieweit bei den verschiedenen Cyclisierungsverfahren eine cis/trans-Isomerisierung eintritt und ob sich die Reaktion möglicherweise in Richtung eines Isomeren lenken ließe. Wünschenswert war natürlich ein Oxapenem mit einer zum Oxazolinring transständigen Methylgruppe, da sich im Falle der Peneme die trans-Isomeren als die stabileren Isomeren erwiesen hatten. Darüberhinaus besitzen ja auch die natürlich vorkommenden und antibakteriell wirksamen Carbapeneme trans-Konfiguration.



Die Acylierung des Essigsäure-Derivates 42 a mit 3,3-Dimethylbuttersäurechlorid bei -78°C verlief gewohnt problemlos und führte zum Enol 43 mit trans-Anordnung der Methylgruppe. Mit einer nicht erwarteten und unangenehmen Überraschung endete dagegen der Versuch den Ring mit Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid zu schließen. Bereits in der dünnschichtchromatographischen Analyse des Reaktionsproduktes zeichnete sich der Mißerfolg ab. Dessen R_f -Wert unterschied sich signifikant von denen aller bisher dargestellten Oxapeneme. Im IR fanden sich nur Carbonylbanden einer β -Lactam-freien Substanz. Somit bestand die Notwendigkeit auf eine andere Cyclisierungsmethode zurückzugreifen.



Nach dem Verfahren von Ihara²⁴ gelang es dann doch das Oxapenem 45 über das Dichlorid 44 unter anschließender reduktiver Cyclisierung herzustellen. Allerdings waren die Bedingungen dieser Umsetzung nicht so ganz definiert. Einerseits wurde das Chlorierungsprodukt, das sich - wie ^1H -NMR-Befunde ergaben - aus einem Gemisch des cis- und des trans-Dichlorids (in Übereinstimmung mit Iharas Ergebnissen wurden keine Epimeren gefunden), des Oxapenems 45 und geringer Mengen einer nur in 4'-Position chlorierten Verbindung zusammensetzte, nicht weiter charakterisiert, andererseits

erfolgte aufgrund der Uneinheitlichkeit des Chlorierungsproduktes auch die reduktive Cyclisierung unter etwas vagen Umständen. Das Produkt wurde als zu 100 % aus Dichlorid bestehend angenommen und dementsprechend mit zwei Äquivalenten Natriumthiophenolat umgesetzt, wobei in eindeutiger Weise das Oxapenem als ein zu gleichen Teilen aus cis- und trans-Isomerem bestehendes Gemisch erhalten wurde. Die Charakterisierung dieser Substanz beschränkte sich auf ein IR- und ein ^1H -NMR-Spektrum.

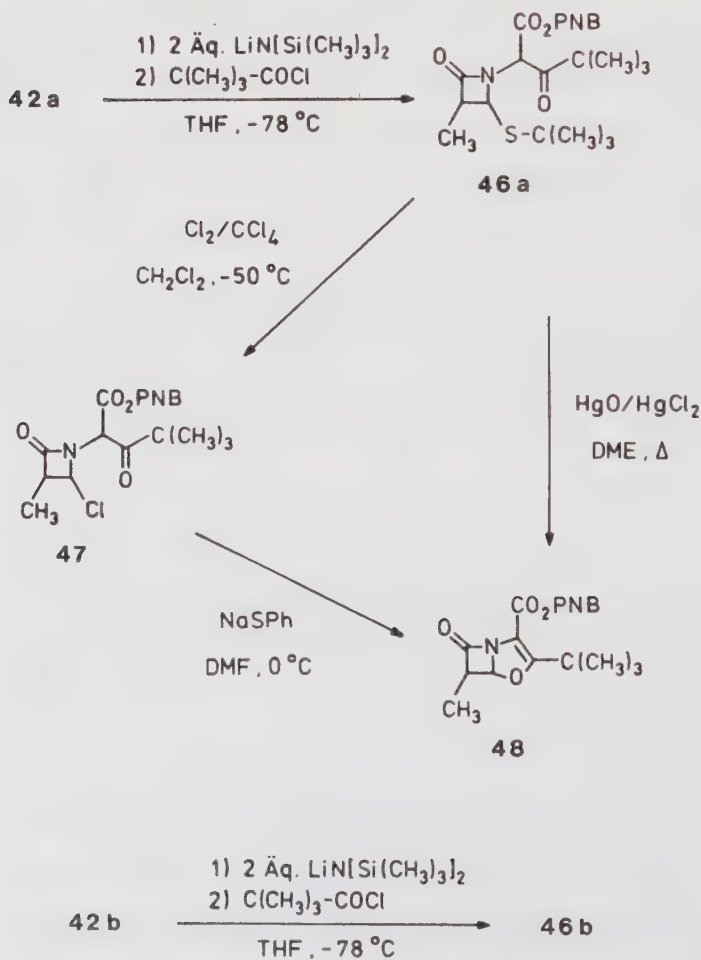
Es handelte sich hier um eine labile Verbindung, die sich auf Kieselgelplatten rasch zersetzte und regelmäßig Schleifspuren hinterließ. Bei dem Versuch die harzige Substanz bis zur Entfernung der letzten Lösungsmittelreste zu trocknen, um eine richtige Analyse zu erhalten, trat eine Zersetzung ein. Dies gab natürlich bereits einen ersten Hinweis darauf, was von der Stabilität solcher Verbindungen zu halten war.

5.1.3. Die Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-
6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-
2-carbonsäure

Die aus der Herstellung von 45 gewonnenen Erfahrungen waren wenig hilfreich. Jedoch mußte bereits von einer stark verminderten Stabilität der Monomethyl-Oxapeneme im Vergleich zu den Dimethyl-Oxapenemen ausgegangen werden. Würde

die t-Butyl-Verbindung eine ausreichende Stabilität aufweisen?

5.1.3.1. Darstellung der Keton-Vorstufe und ihre Cyclisierung zum Oxapenemcarbonsäureester



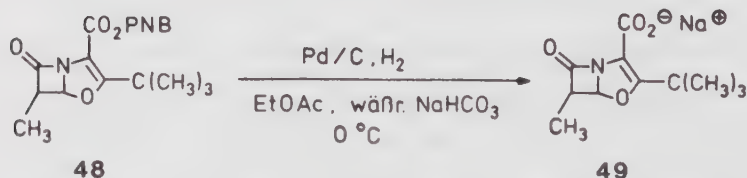
42 a und Pivaloylchlorid lieferten unter den üblichen Bedingungen das trans-Keton 46 a. Die nachfolgende Cyclisierung des Ketons mit Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid in siedendem DME verlief jedoch uneinheitlich und führte zur Isolierung eines Gemisches aus β -Lactam-freiem Material und dem gewünschten Oxapenemcarbonsäureester 48 (IR; Anteil des Cyclisierungsproduktes vielleicht 20 %). Da beide Bestandteile in verschiedenen Toluol/Essigsäureethylester-Gemischen den gleichen R_f -Wert besaßen, gelang die Trennung erst nach Chromatographie mit weitaus unpolareren Fließmittelgemischen. Letztlich verblieben aus einem 146 mg-Ansatz etwa 2 - 3 mg harziger Substanz, die mit Hilfe eines 360 MHz- ^1H -NMR-Spektrums als ein 1 : 1 - Gemisch aus cis- und trans-Isomerem des Oxapenems 48 identifiziert werden konnte.

Zu einem eindeutigeren Verlauf der Reaktion und vernünftigen Ausbeuten verhalf auch hier ein an die Bedingungen von Ihara²⁴ angelehntes Verfahren, bei dem der Ringschluß über ein Chlorierungsprodukt als Zwischenstufe erfolgte. Die Umsetzung von 46 a mit etwas mehr als zwei Äquivalenten Chlor bei - 50 °C führte aber nicht zum erwarteten Dichlorid, sondern größtenteils zum Monochlorid 47. Dies ergab die Untersuchung verschiedener chromatographischer Fraktionen durch ^1H -NMR. Durch Massenspektrum und CH-Analyse wurde der Befund zusätzlich abgesichert. Neben dem Monochlorid (3 : 1 - Gemisch der Diastereomeren) ließen sich im Chlorierungsprodukt auch geringe Mengen des Dichlorids nachweisen

(ca. 10 %). Beiden Verbindungen wurde aufgrund ihrer Kopplungskonstanten im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum die cis-Konfiguration zugeordnet. Eine weitere Bestätigung erfuhren diese Ergebnisse durch die darauffolgende Umsetzung des Chlorierungsproduktes mit Natriumthiophenolat. 1,1 Äquivalente reichten für die Ringschlußreaktion völlig aus. Auch hier entstanden cis- und trans-Isomeres von 48 in einem ungefähren Verhältnis von 1 : 1. Wegen der sich kaum unterscheidenden R_f -Werte war eine Trennung nicht möglich.

Zum Vergleich der spektroskopischen Daten wurde auch das cis-Keton 46 b aus dem entsprechenden cis-Azetidinon 42 b hergestellt. Eine Untersuchung der Cyclisierungsreaktion des cis-Ketons erübrigte sich infolge der unvermeidbaren cis/trans-Isomerisierung.

5.1.3.2. Hydrogenolyse von 48 und Hydrolyse des Natriumsalzes



Die nach katalytischer Hydrierung des cis/trans-Gemisches von 48 gewonnene Lösung der Oxapenemcarbonsäuresalze 49 diente in erster Linie der Bestimmung der Halbwertszeit der Hydrolyse, für die sich ein Wert von 2,6 Stunden ergab. Es

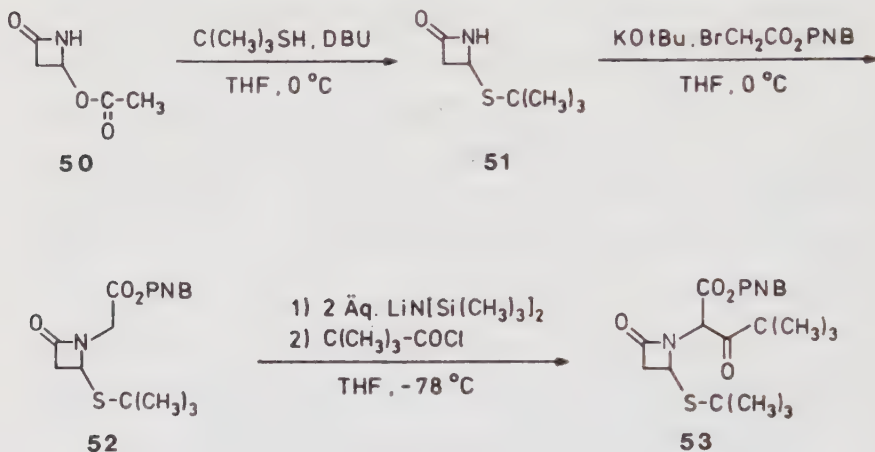
handelt sich hierbei um einen Durchschnittswert für beide Isomeren. Wie unter anderem von den Penemen her bekannt ist, sind trans-Verbindungen etwas stabiler, so daß die Halbwertszeit der trans-Komponente tatsächlich etwas größer sein sollte als die gemessenen 2,6 Stunden. Im Vergleich zu 31 e nimmt die Halbwertszeit und damit die Stabilität ganz erheblich ab. Der Nachweis des Salzes erfolgte hier durch ein 360 MHz-¹H-NMR-Spektrum der aus einer in D₂O durchgeführten Hydrierung erhaltenen Lösung. In allen anderen Fällen hatten sich 80 MHz-Spektren von D₂O-Lösungen der Lyophilisate als ausreichend erwiesen. Wie zu erwarten, lag ein 1 : 1 - Gemisch der isomeren Salze vor.

5.2. Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure

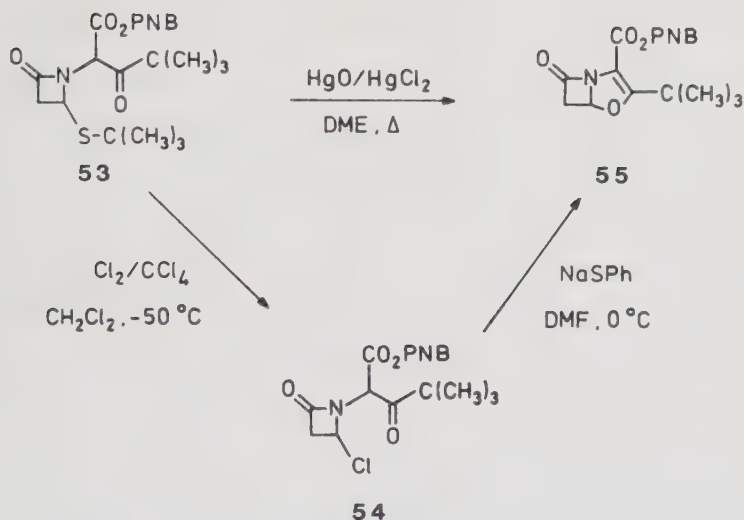
Als letzte Ziele im Rahmen einer angestrebten Systematik verblieben noch Synthese und Untersuchung des in der 6-Position unsubstituierten t-Butyl-Oxapenems. Für das Salz der zugehörigen Carbonsäure mußte eine noch weiter herabgesetzte Stabilität erwartet werden.

5.2.1. Darstellung des Ketons und Cyclisierung zum Oxapenem carbonsäureester

In der Synthese des unsubstituierten t-Butyl-Oxapenems 55 konnte bereits vom Acetoxiazetidinon 50 ausgegangen werden, das in ausreichender Menge zur Verfügung stand.



Die Darstellung des Ketons 53 als Vorstufe zum Oxapenem folgte wieder dem bewährten Schema. Auf einigen Stufen lagen die Ausbeuten im Vergleich zu den entsprechenden dimethylsubstituierten Verbindungen um einiges niedriger, wohl ein Zeichen allgemein zunehmender Empfindlichkeit. Insbesondere die N-Alkylierung mit Kalium-t-butylat als Base verlief bei Ausbeuten um 11 % ausgesprochen unbefriedigend. Eine bedeutende Verbesserung brachte auch hier die bereits in 5.1.1. erwähnte Verwendung von Lithium-bis-trimethylsilylamid.



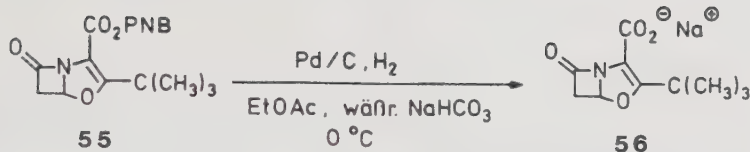
Wiederum wurden zur Cyclisierung des Ketons 53 die beiden alternativen Wege beschritten. Auch an diesem Beispiel trat die Überlegenheit der Chlorierungsmethode deutlich zutage. Führte die Ringschlußreaktion mit Quecksilbersalzen nur zu Ausbeuten um 10 %, so lieferte die zweite Methode ein einheitliches Produkt in wesentlich annehmbareren Ausbeuten. Der einstufige Weg war damit offensichtlich nur für die Darstellung der stabileren 6,6-dimethylsubstituierten Oxapeneme begehbar. Aus der Umsetzung des Ketons 53 mit etwas mehr als zwei Äquivalenten Chlor ergab sich ausschließlich das Gemisch der kristallinen diastereomeren Monochloride 54. Weitere Produkte wurden nicht gefunden. Der Ringschluß gelang wie zuvor (5.1.3.1.) ohne weiteres mit 1,1 Äquivalenten Natriumthiophenolat.

Auf die Reinigung der Substanz war äußerste Sorgfalt zu verwenden infolge der Anwesenheit von Thiophenol im Reaktionsprodukt. Am besten bewährte sich eine chromatographische Reinigung des Rohprodukts über Kieselgel, die mit nicht unerheblichen Ausbeuteverlusten verbunden war, oder eine Umfällung aus Ether. Versuche, noch verunreinigte Substanz umzukristallisieren, endeten mit deren Zersetzung (erkennbar am Ausölen der eigentlich kristallinen Substanz).

Die Beobachtung, daß ein Äquivalent Natriumthiophenolat für den Ringschluß ausreichte, zeigte, daß es lediglich auf dessen basische Eigenschaften ankam. 54 sollte sich daher auch mit beliebigen anderen Basen in das Oxapenem überführen lassen. Fräulein S. Klar konnte diese Vermutung bestätigen. Eine Lösung von Kalium-t-butylat in t-Butanol (hergestellt aus Kalium und t-Butanol) erfüllte den gleichen Zweck. Mit dieser Base ließen sich die Bedingungen der Reaktion problemloser gestalten, da als Nebenprodukt nur t-Butanol entsteht.

5.2.2. Hydrogenolyse von 55 und Hydrolyse des Natrium- salzes

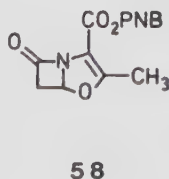
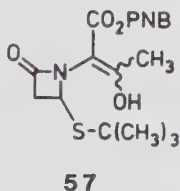
Für die Halbwertszeit der Hydrolyse des Oxapenemcarbonsäuresalzes, das in gewohnter Weise in Form einer wäßrigen Lösung bei der katalytischen Hydrierung des Esters gewonnen wurde,



ergab sich ein Wert von nur noch 1,6 Stunden. Der Nachweis des Salzes erfolgte wieder durch ein 360 MHz- ^1H -NMR-Spektrum einer frisch hergestellten Lösung in D_2O .

5.3. Noch ein Versuch - der 3-Methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester ?

Schon bevor der stabilisierende Einfluß der t-Butylgruppe bekannt war, galten einige Anstrengungen der Synthese des Oxapenems 58.

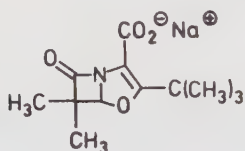


Die Enolvorstufe 57 war zwar ohne Schwierigkeiten zugänglich, jedoch gelang der Ringschluß auf keinem der früher beschriebenen Wege. Im Zuge der Synthese eines Clavulansäure-Analogons beobachteten Bentley und Hunt²² das Auftre-

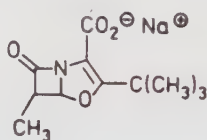
ten der Signale des entsprechenden Methylesters im Protonenspektrum; eine Isolierung erfolgte aufgrund der Instabilität dieser Verbindung nicht.

5.4. Vergleich der Halbwertszeiten

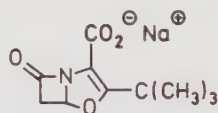
Die gemessenen Halbwertszeiten für die Hydrolyse der folgenden Oxapenemcarbonsäuresalze



31e



49



56

$t_{1/2} =$	29,5 h	2,6 h	1,6 h
-------------	--------	-------	-------

bestätigen eindrucksvoll, daß sich die Einführung von Alkylsubstituenten in der 6-Position in hohem Maße stabilisierend auf das Oxapenemgerüst auswirkt, ähnlich wie dies bei den Penemen geschieht. Für die Entwicklung stabiler Oxapeneme vermag die Analogie zum Penem-System also wertvolle Dienste zu leisten.

5.5. Die biologische Aktivität 6-methylsubstituierter und am C-6 unsubstituierter Oxapeneme

Als Testkeime für die Bestimmung der biologischen Wirksamkeit frisch hergestellter Lösungen der Salze 49 und 56 kamen die schon früher benutzten Bakterienstämme *Staphylococcus aureus* DSM 1104, 23824 und 012484/77 sowie *E. coli* DSM 1103 zur Verwendung. 49 wurde zusätzlich auf seine Wirksamkeit gegen den β -Lactamase produzierenden *E. coli* W 3110 R 6 K getestet.

5.5.1. Antibakterielle Aktivität

Eine Übersicht über das Ausmaß der antibakteriellen Aktivität der Salze 49 und 56 vermittelt dem Betrachter die Tabelle 7. In Klammern sind die aufgetragenen Mengen der Salze bzw. an Penicillin V in μg angegeben.

Tab. 7 : Antibakterielle Wirksamkeit 6-methylsubstituierter und am C-6

unsubstituierter Oxapenemcarbonsäuresalze im Vergleich zu Penicillin V

Hemmhofdurchmesser (mm)

	S. aureus DSM 1104	S. aureus 23824	S. aureus 012484/77	E. coli DSM 1103	E. coli W 3110 R 6 K
 (250 µg)	48	11	8	12	8
 (240 µg)	47	46	46	37	21
 (220 µg)	47	46	45	41	

Die Ergebnisse der bakteriellen Tests waren überraschend erfreulich.

49 und 56 unterschieden sich in ihrer antibakteriellen Aktivität gravierend von der Dimethylverbindung 31 e. In ihrer Wirksamkeit gegen den gewöhnlichen nichtresistenten *Staphylococcus aureus* erwiesen sie sich dem Penicillin V als ebenbürtig. Eine nahezu unverminderte Wirkung zeigten sie gegen resistente Staphylokokken und nur eine geringe Abschwächung der Wirksamkeit gegen gramnegativen *E. coli*, Stämme, gegen die Penicillin V unwirksam bleibt. Sogar gegen β -Lactamase produzierenden *E. coli* konnte eine mäßige Aktivität festgestellt werden.

Das vollkommen unterschiedliche Verhalten zeigte doch, daß sich eine Disubstitution in der 6-Position ungünstig auf die Bindung an das Zielenzym und damit auf die antibakterielle Aktivität auswirkt. Immerhin blieb festzuhalten, daß monosubstituiertes und unsubstituiertes Oxapenem vergleichbare Aktivität zeigten.

5.5.2. β -Lactamase-Hemmung

Alle Resultate der Tests auf eine β -Lactamase inhibierende Wirkung von 49 und 56 faßt die Tabelle 8 zusammen.

Tab. 8 : Tests auf β -Lactamase-Hemmung

Hemmhofdurchmesser (mm)					
Staphylococcus aureus			Escherichia coli		
DSM 1104 ^a 23824 012484/77			DSM 1103 W 3110		
Penicillin V					
(250 μ g)	ca. 50	11	8	12	8
49					
(240 μ g)	ca. 47	46	46	37	21
Pen. V + 49					
(250 + 240 μ g)	ca. 53	48	51	40	23
56					
(220 μ g)	ca. 45	48	43	41	
Pen. V + 56					
(250 + 220 μ g)	ca. 52	47	48	44	

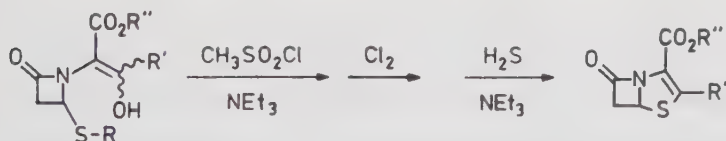
^a Der nichtresistente *Staphylococcus aureus* lieferte keine scharf begrenzten Hemmhöfe.

Eine Aussage über eine mögliche Inhibitorwirkung der Salze 49 und 56 wird erschwert durch die ihnen eigene hohe antibakterielle Aktivität. Vergleicht man die Durchmesser der Hemmhöfe der reinen Verbindung und des Penicillin/Salz-

Gemisches miteinander, so ist bei allen getesteten Bakterienstämmen eine geringe Vergrößerung festzustellen. Eine Wirkung dieser Oxapenemcarbonsäuresalze als β -Lactamase-Inhibitoren darf demnach wohl unterstellt werden.

5. Die Cyclisierung mit Quecksilberchlorid und Quecksilberoxid - eine Methode auch zur Darstellung von Penemen ?

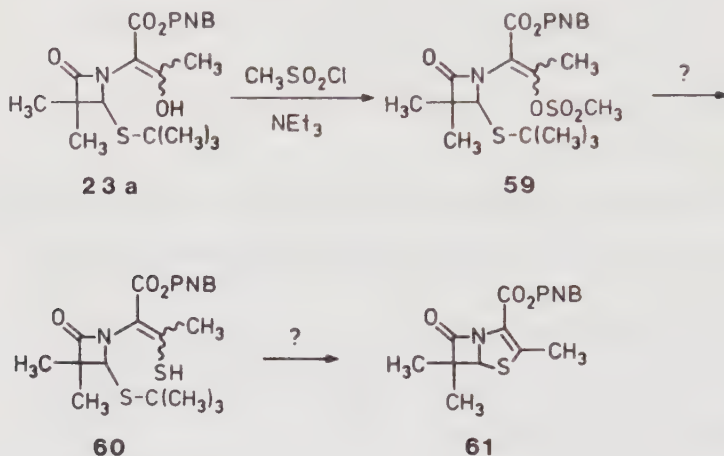
Bekanntlich^{15,54,55} lassen sich die in der Synthese von Oxapenemen auftretenden Enole auch als Zwischenstufen für die Darstellung von Penemen verwenden.



In Analogie zur Ringschlußreaktion der Enole bzw. Ketone schien es möglich durch Umsetzung geeigneter Schwefelverbindungen mit Quecksilbersalzen ebenfalls zu Penem-Derivaten zu gelangen. Insbesondere die im Vergleich zu den Oxapenemen wesentlich höhere Stabilität der Peneme ließ solche Versuche sinnvoll erscheinen. Das Ziel der im folgenden geschilderten Versuche bestand nicht primär in der Darstellung von Penemen, sondern darin, der Cyclisierung mit Quecksilbersalzen weitere Anwendungsmöglichkeiten in der Synthese hochgespannter bicyclischer β -Lactame zu erschließen.

Als ein gangbarer Weg bot sich der Ersatz der Hydroxyl-

gruppe durch eine Sulfhydryl-Gruppe an. Das Enol 23 a diente als Modellverbindung.

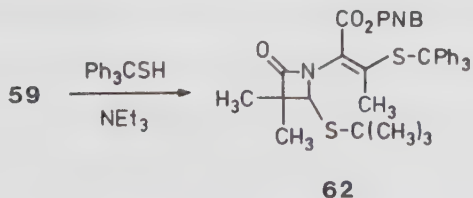


Aus der Reaktion von 23 a mit Methansulfonylchlorid in Gegenwart von Triethylamin resultierte ein Gemisch aus Z- und E-Mesylat 59 im Verhältnis 5 : 1. Trennung und Reinigung der beiden Isomeren durch fraktionierte Kristallisation und Säulenchromatographie waren aufgrund hinreichend verschiedener R_f-Werte möglich. Der kristallinen Hauptkomponente wurde aufgrund der etwas stärker tieffeldverschobenen Signale der am Esterrest befindlichen Methylgruppen im ¹H-NMR-Spektrum die Z-Konfiguration zugeordnet. Als Erklärung für diese Tieffeldverschiebung wurde ein in dieser Konfiguration möglicher Anisotropie-Effekt der aus dem Enol stammenden Methylgruppe bezüglich der Carbonylfunktion des Esters angenommen.

Da sich Mesylate als gute Abgangsgruppen leicht nukleo-

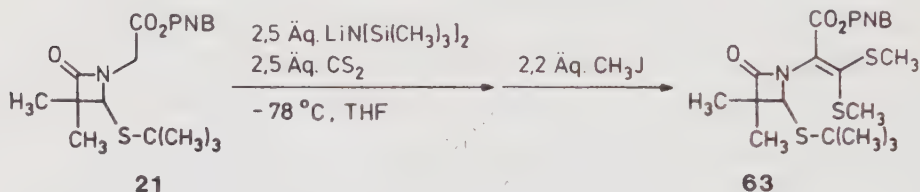
phil ersetzen lassen, bestand der nächste Schritt in dem Versuch, durch Umsetzung mit Lithiumsulfid oder Natriumhydrogensulfid zu 60 zu gelangen. Solche meist eindeutig ablaufenden Ansätze führten zur Isolierung von Substanzen, die im Dünnschichtchromatogramm die für Enolstrukturen typischen langgezogenen Flecken zeigten. Schon beim Stehenlassen der Lösung trat nach kurzer Zeit eine dünnschichtchromatographisch verfolgbare Veränderung ein. Die Vermutung eines spontan erfolgenden Ringschlusses ließ sich weder durch $^1\text{H-NMR}$ - noch durch IR-Spektren (keine C=O -Banden über 1700 cm^{-1}) belegen. Versuche, das nach der Aufarbeitung isolierte Material sofort mit Quecksilbersalzen umzusetzen, zeigten keinen Erfolg.

Ein anderer Ansatz beruhte auf der Kenntnis, daß sich Tritylthioverbindungen leicht durch Quecksilbersalze unter Bildung von Quecksilbersulfiden spalten lassen. Die Hoffnung 62, das aus dem Mesylat leicht herstellbar war (Z- und E-Mesylat ergaben dasselbe Produkt),



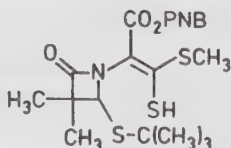
durch Umsetzung mit Quecksilberoxid und Quecksilberchlorid zu spalten und über das möglicherweise intermediär entstehende Thiolat den Ringschluß zu erreichen, erfüllte sich aber nicht.

Weitere Versuche zielten darauf ab, durch Einführung von Schwefelkohlenstoff an der aciden Methylengruppe von 21 unmittelbar zu schwefelhaltigen Derivaten zu gelangen, die unter Umständen einen Ringschluß mit Quecksilbersalzen erlaubten.



Führte man die Reaktion unter den angegebenen Bedingungen durch, erhielt man erst nach mehrfacher Chromatographie und Umkristallisieren analysenreines 63 in 4 % Ausbeute. Ein Nebenprodukt, dessen chromatographische Abtrennung erst im sehr unpolaren Fließmittelgemisch glückte, zeigte im $^1\text{H-NMR}$ -Spektrum eine Verschiebung des Signals der Benzylgruppe zu tieferem Feld und das Verschwinden eines der beiden Protonen. Eine Identifizierung dieser Substanz, die im Spektrum des Rohprodukts noch nicht erkennbar und somit vielleicht ein Folgeprodukt war, gelang nicht.

Nachdem sich die Einführung von Schwefelkohlenstoff zumindest als möglich erwiesen hatte, galt es durch Einsatz äquimolarer Mengen an Methyljodid zu einem Enthiol der folgenden Struktur zu kommen.



Es gab zwar gewisse Anzeichen für das Entstehen dieser Substanz, aber wie schon zuvor erfolgte eine rasche Veränderung und gelang der Ringschluß nicht.

7. Ausblick

Es war im Verlaufe der Arbeit gelungen, vergleichsweise stabile 6,6-dimethylsubstituierte Oxapeneme mit einer allerdings nur bescheidenen biologischen Aktivität darzustellen. Demgegenüber zeigten sowohl die 6-methylsubstituierten als auch unsubstituierte Verbindungen eine sehr gute antibakterielle Wirksamkeit. Die erreichte Stabilisierung konnte hier jedoch noch nicht zufriedenstellen. Welche Schlußfolgerungen ergeben sich aus diesen Beobachtungen für künftige Entwicklungen auf dem Feld der Oxapeneme ?

Weitere synthetische Bemühungen sollten in Richtung der am C-6 monosubstituierten Derivate zielen, da diese bei vergleichbarer biologischer Aktivität noch etwas stabiler sind als unsubstituierte Verbindungen. Als geeignetste Substituenten erscheinen die Hydroxymethyl- oder die Hydroxyethylgruppe, für die sich aus dem Vergleich mit den Penemen eine der Methylgruppe zumindest ähnliche, wenn nicht noch höhere Stabilisierung erwarten läßt.^{27,28} Synthetische und natürliche β -Lactame, die diese Reste trugen (Peneme, Thienamycine), erwiesen sich als Substanzen von ausgezeichneter Wirksamkeit. Im Hinblick auf die Substitution am C-3 dürfte

die Beibehaltung eines tertiären C-Atoms vielversprechend sein, da sich der t-Butyl- oder der substituierte t-Butyl-Rest als sehr gutes Mittel zur Stabilisierung des Moleküls erwiesen hatte. Aktivitätsbetrachtungen favorisieren hierbei die Einführung polarer Gruppen am t-Butyl-Rest. Vielleicht sollten auch noch sperrigere Alkylsubstituenten in Betracht gezogen werden.

Bei alledem darf auch nicht vergessen werden, daß es sich bei den synthetisierten Oxapenemen in einem Fall um cis/trans-Gemische und in jedem Fall um Racemate bezüglich der Konfiguration am C-5 gehandelt hatte. Wirksam ist aber wahrscheinlich wie bei Penicillinen und Penemen^{29,51,56} auch hier nur das 5 R - Isomere.

Rückblickend auf die vorgestellten Ergebnisse der eigenen Arbeit sollte es möglich sein einen vernünftigen Ausgleich zwischen Stabilität und Wirksamkeit zu finden und zu einem hochaktiven und hinreichend stabilen Oxapenem zu gelangen, das vielleicht einmal eine praktische Verwendung finden könnte. Untersuchungen im Sinne der ausgeführten Überlegungen waren zur Zeit der Niederlegung dieses Manuskripts im Arbeitskreis von Prof. Dr. H.R. Pfaendler im Gange.

EXPERIMENTELLER TEIL

8. Allgemeines

8.1. Physikalische Meßgeräte

¹H-NMR-Spektren

WP 80 CW (Hersteller Bruker) und AM 360 (Bruker)

¹H-NMR-Spektren der hergestellten Verbindungen wurden in der Regel in CDCl₃ oder CCl₄ (besonders für empfindliche Verbindungen) aufgenommen. Für weniger gut lösliche, empfindliche Substanzen diente CD₃CN als Lösungsmittel. Insbesondere im Fall der Ketone (33 e,g, 46, 53) und der chlorierten Ketone (47, 54) erwies sich die Verwendung von CD₃CN als vorteilhaft, da die Signale besser getrennt wurden und eine leichtere Interpretation erlaubten.

Als interner Standard ($\delta = 0$ ppm) wurde Tetramethylsilan (TMS) verwendet.

Spektren der Oxapenemcarbonsäuresalze wurden in D₂O mit t-Butanol als internem Standard ($\delta = 1,22$ ppm) aufgenommen. Die Auswertung der Spektren erfolgte nach erster Ordnung.

IR-Spektren

IR-Spektrometer der Firma Perkin-Elmer Modell 125 und Infracord 157 sowie Bruker Fourier-IR-Spektrometer IFS 45.

Die Angabe der Banden erfolgte nach fallenden Wellenzahlen (cm^{-1}); es bedeuten : s = stark, m = mittel und w = schwach.

Die Spektren aller β -Lactam-Derivate wurden in CH_2Cl_2 als Lösungsmittel (ca. 3%ige Lösungen) aufgenommen, Spektren der Oxapenemcarbonsäuresalze in KBr.

UV-Spektren

Spektralphotometer DMR 10 der Firma Carl Zeiss.

Kinetische Messungen wurden mit dem UV/Vis-Spektrometer Lambda 3 (Hersteller Perkin-Elmer) in Verbindung mit den Schreibern R 100 A (ebenfalls Perkin-Elmer) und Varian Modell 9176 zur Aufzeichnung der Meßkurven durchgeführt.

Massenspektren

Massenspektrometer MS 902 (Hersteller AEI, Manchester)

Röntgendiffraktometer

Nicolett P 3 (Graphit-Monochromator, $\text{Mo-K}\alpha$ - Strahlung, $\lambda = 0,71069 \text{ \AA}$).

Die Strukturen wurden durch direkte Methoden mit Hilfe des Shel XTL 4.1 - Programms gelöst.

Schmelzpunkte

Alle angegebenen Schmelzpunkte wurden im Schmelzpunktsblock bestimmt und sind nicht korrigiert.

8.2. Lösungsmittel

Die verwendeten Lösungsmittel wurden nach Routineverfahren gereinigt und getrocknet. Methylenchlorid, Tetrachlorkohlenstoff und Benzol wurden über basisches Aluminiumoxid ($\text{pH } 9,5 \pm 0,2$; Aktivitätsstufe I, Fluka) filtriert. THF und Dimethoxyethan wurden zur Trocknung über Lithiumaluminiumhydrid am Rückfluß gekocht und frisch destilliert. Kleine Mengen wurden in einer Umlaufdestille mit Septumverschluß getrocknet und erst bei Gebrauch mit einer Spritze entnommen. DMF wurde einige Tage über Molekularsieb (Porendurchmesser $4 \overset{\circ}{\text{\AA}}$, Union Carbide) stehenlassen.

8.3. Herkunft der eingesetzten Chemikalien

Alle Chemikalien und Lösungsmittel wurden von den Firmen Fluka, Merck und Janssen bezogen. Als Schutzgase für Reaktionen wurden Stickstoff oder Argon der Firma Linde eingesetzt.

8.4. Chromatographische Verfahren

Für die analytische Dünnschichtchromatographie dienten Kieselgel-Fertigplatten 60 F₂₅₄ (Schichtdicke 0,25 mm) oder Kieselgel-Alufolien 60 F₂₅₄ (Schichtdicke 0,2 mm) der Firma Merck.

Die präparative Trennung und Reinigung von Stoffmengen im Milligrammbereich erfolgte auf Kieselgel-Fertigplatten 60 F₂₅₄ (Schichtdicke 0,25 mm). Größere Substanzmengen wurden durch Säulenchromatographie an Kieselgel 60 der Korngröße 0,063 - 0,200 mm (70 - 230 mesh ASTM) der Firma Merck gereinigt, die sehr empfindlichen Oxapenemcarbonsäureester im allgemeinen über Florisil 60 - 100 mesh (Magnesiumsilikat, pH 8,5) der Firma Fluka.

8.5. Präparative Methodik

Standardapparaturen werden nicht beschrieben. Spezielle Apparaturen waren nicht erforderlich.

Der Verlauf fast aller Reaktionen ließ sich dünnschichtchromatographisch verfolgen. Edukte und Produkte wurden anhand ihrer Anfärbung in der Jodkammer oder ihrer Absorption im UV-Licht identifiziert und unterschieden. Der Abbruch der Reaktion erfolgte, wenn im Dünnschichtchromatogramm kein Ausgangsmaterial im Reaktionsansatz mehr zu erkennen oder keine weitere Veränderung mehr festzustellen war.

Cycloadditionen mit Chlorsulfonylisocyanat wurden IR-spektroskopisch verfolgt. In bestimmten Zeitabständen wurden die IR-Spektren von in Methylenchlorid verdünnten Proben des Reaktionsansatzes gegen Methylenchlorid als Referenz aufgenommen. Die Aufarbeitung erfolgte, wenn alles Chlorsulfonylisocyanat, kenntlich an seiner IR-Bande bei 2235 cm^{-1} , verbraucht war.

8.6. Kinetische Messungen

Es wurden die Kinetiken der Hydrolyse aller synthetisierten Oxapenemcarbonsäuresalze in Phosphatpufferlösungen definierten pH-Wertes untersucht. Hierzu wurde die zeitabhängige Abnahme der Extinktion im jeweiligen Absorptionsmaximum einer Verbindung verfolgt.

8.6.1. Herstellung der Phosphatpufferlösungen

Für die Bestimmung der Halbwertszeiten der Hydrolyse unter physiologischen Bedingungen wurde eine 0,067 m Phosphatpufferlösung vom pH 7,4 verwendet. Der Puffer enthielt 19,36 g (0,054 mol) $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{ H}_2\text{O}$ und 1,72 g (0,013 mol) KH_2PO_4 auf ein Volumen von genau einem Liter Wasser (vgl. Tab. 9).

Zur Bestimmung der pH - Abhängigkeit der Hydrolyse dienten außerdem die in Tab. 9 aufgeführten Phosphatpuffer-, Hydrogenphosphat- und Dihydrogenphosphatlösungen.

pH	Menge (g/l)	KH_2PO_4	+ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$
4,63		9,118	-
5,74		8,574	1,433
6,12		7,895	3,220
7,40		1,72	19,36
8,08		0,553	22,540
9,22		-	23,995

Tab. 9 : Zusammensetzungen und pH-Werte verwendeter Phosphatlösungen

Alle Lösungen waren auf einen Gesamtphosphatgehalt von 0,067 mol pro Liter Wasser eingestellt. Der genaue pH-Wert der Phosphatlösungen wurde mittels eines pH-Meters, das zuvor mit Maßlösungen bekannter pH-Werte geeicht worden war, bestimmt.

8.6.2. Meßbedingungen

Je nach Konzentration der frisch bereiteten Oxapenemcarbonsäuresalz-Lösungen wurden etwa 10 - 90 µl mit Phosphat-

puffer auf das Küvettenvolumen verdünnt bis der Wert der Extinktion im Absorptionsmaximum zu Beginn der Messung möglichst bei 1,000 lag. Die Durchführung der Messung erfolgte in thermostatisierten 1 cm - Quarzküvetten bei einer Temperatur von $37 \pm 0,5$ °C. Die Aufzeichnung der Meßkurven bzw. die Sammlung von Meßpunkten wurde bis zum Erreichen einer konstanten Endabsorption fortgeführt.

8.6.3. Bestimmung der Halbwertszeiten

Die Auswertung der Meßkurven erfolgte graphisch nach den Gesetzen für Reaktionen pseudoerster Ordnung. Die Auftragung von $\ln(E - E_{\infty})$ - wobei E_{∞} den Endwert der Extinktion repräsentiert - gegen die Zeit führte zu Geraden, aus deren Steigungen die Halbwertszeiten berechnet werden konnten. Für die Auswertung wurden etwa die ersten 3 - 4 Halbwertszeiten herangezogen.

8.7. Bakterielle Tests

8.7.1. Verwendetes Material

Für die Herstellung der Testplatten fanden Materialien der DIFCO Lab., Detroit, Michigan, USA, Verwendung.

Nährlösung : DIFCO Bacto Nutrient Broth Dehydrated
Enthält pro Liter 3 g Bacto-Beef-Extrakt und
5 g Bacto-Pepton.

Agar : DIFCO Bacto Nutrient Agar Dehydrated
Enthält pro Liter 3 g Bacto-Beef-Extrakt,
5 g Bacto-Pepton und 15 g Agar.

8.7.2. Untersuchte Bakterienstämme

Staphylococcus aureus DSM 1104

Staphylococcus aureus 23824, produziert β -Lactamase.

Staphylococcus aureus 012484/77, produziert β -Lactamase.

Escherichia coli DSM 1103

Escherichia coli W 3110 R 6 K, produziert TEM 1 - β -Lactamase.

Pseudomonas aeruginosa DSM 1117

8.7.3. Durchführung der bakteriellen Tests

Für die Durchführung der Tests wurden bei 170 °C sterilisierte Geräte und originalverpackte Petrischalen verwendet.

Die Anzucht der Bakterien in einer Nährlösung erfolgte durch Bebrüten im Trockenschrank bei 37 °C. Herstellung der Agarplatten unter keimfreien Bedingungen richteten sich nach Vorschrift.

Die Lösungen der zu untersuchenden Oxapenemcarbonsäuresalze wurden mittels sehr saugfähiger Filzplättchen auf den Bakterienagar aufgebracht. Als Vergleich diente eine Lösung von Penicillin V in trockenem DMSO. Von der Referenzsubstanz wurden jeweils 50 µl einer 0,5%igen bzw. 25 µl einer 1%igen Lösung aufgetragen. Der Gehalt der Oxapenemcarbonsäuresalzlösungen wurde kurz vor dem Test anhand der gemessenen Extinktion im Absorptionsmaximum unter Zugrundelegung eines Literaturwertes für ϵ von 5800 ermittelt. Auf die Plättchen wurden jeweils die der Substanzmenge der Vergleichssubstanz entsprechenden µl-Mengen aufgebracht, für die Tests auf β -Lactamase-Hemmung jeweils ein Gemisch der Lösungen von Vergleichssubstanz und zu untersuchender Substanz im gleichen Mengenverhältnis.

Nach Bebrüten der Testplatten im Trockenschrank bei 37 °C über Nacht wurden die biologischen Aktivitäten anhand der gemessenen Hemmhofdurchmesser bestimmt.

9. Synthesen einiger Ausgangsmaterialien

9.1. Bromessigsäure-p-nitrobenzylester³⁴

In einer Umlaufapparatur wurden 18,4 g (0,12 mol) p-Nitrobenzylalkohol, 25,0 g (0,18 mol) Bromessigsäure und 2,9 g (0,017 mol) p-Toluolsulfonsäure in 150 ml Benzol

unter Rückfluß gekocht. Wasserhaltiges Benzol wurde abdestilliert und durch frisches Benzol ersetzt, bis nur noch klares Benzol destillierte und im Dünnschichtchromatogramm die Vollständigkeit der Reaktion festgestellt wurde. Die gelbbraune Lösung wurde dreimal mit je 50 ml 2 n Natronlauge und zweimal mit je 70 ml Wasser gewaschen. Nach Trocknen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Benzols wurde der verbliebene orange ölige Rückstand aus 100 ml Ethanol umkristallisiert. Trocknung der Substanz über Nacht an der Luft und für einige Stunden im Hochvakuum bei Raumtemperatur ergab 26,8 g (81 %) gelber Kristalle vom Schmelzpunkt 48,5 - 50 °C.

9.2. Methoxyessigsäurechlorid⁴⁶ (22 b)

3,8 ml (4,5 g, 50 mmol) Methoxyessigsäure und 27,6 ml (45,0 g, 378 mmol) Thionylchlorid wurden unter Zusatz eines Tropfens DMF eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abdestillieren überschüssigen Thionylchlorids wurden mehrere Siedefractionen von 87 - 106 °C sowie eine Fraktion von 107 - 108 °C (0,97 g) erhalten. Das gesamte Destillat des Siedebereichs 87 - 106 °C wurde vereinigt, nochmals mit 13,8 ml (22,5 g, 189 mmol) Thionylchlorid versetzt und erhitzt. Die nachfolgende Destillation ergab noch 1,65 g vom Siedepunkt 106 - 109 °C. Die Gesamtausbeute an Säurechlorid betrug somit 2,62 g (48 %). Siedepunkt 106 - 109 °C (Lit.: 112 - 113 °C).

9.3. Natriumthiophenolat

Herstellung absoluten Ethanol's :

Nach Auflösung von 1,4 g Natrium in 200 ml eines bereits über Magnesium absolutierten Ethanol's wurden 5,5 g Phthalsäurediethylester zugegeben und das Gemisch eine Stunde unter Stickstoff am Rückfluß gekocht. Der so absolutierte Alkohol wurde unter Stickstoff abdestilliert und unter Argon aufbewahrt.

Das eingesetzte Thiophenol wurde in einer mit Argon gespülten Apparatur bei 14 Torr frisch destilliert (Siedebereich 97 - 100 °C) und unter Argon aufbewahrt.

In einem mit Hahn und Kühler versehenen 100 ml - Dreihalskolben wurden 50 ml absoluten Ethanol's unter Argon-Atmosphäre vorgelegt. Nach vollständiger Auflösung von 1,15 g (50,0 mmol) Natrium im Ethanol wurden unter nochmaliger Spülung der gesamten Apparatur mit Argon ein Tropftrichter aufgesetzt und eine Lösung von 6,12 g (55,6 mmol) Thiophenol in 20 ml absolutem Ethanol innerhalb von 30 Minuten bei Raumtemperatur hinzugetropft, wobei sich die Lösung leicht erwärmte. Die Lösung wurde noch eine Stunde gerührt und dann im Vakuum auf ein Volumen von ca. 20 ml eingeeengt. Da sich nach Aufgießen von 20 ml Cyclohexan kein festes Natriumthiophenolat aus dem zweiphasigen Gemisch abschied, wurde die Lösung im Vakuum weiter eingeeengt bis zum

Auftreten eines farblosen Niederschlags. Nach nochmaligem Zusatz von 20 ml Cyclohexan wurde der Niederschlag in einer Fritte unter Argon abgesaugt und anschließend drei Stunden im Hochvakuum getrocknet. Es wurden 1,37 g farblosen Produkts erhalten. Durch Einengen der Mutterlauge und nochmaliges Aufgießen von Cyclohexan ließen sich noch 1,71 g gewinnen. Die Gesamtmenge an isoliertem Natriumthiophenolat betrug 3,08 g (47 %).

10. Synthesen der Natriumsalze 3-substituierter

6,6-Dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäuren

10.1. Essigsäureisobutenylester (16)^{31,32}

183 ml (145 g, 2 mol) Isobutyraldehyd, 284 ml (306 g, 3 mol) Essigsäureanhydrid und 100 g (1,2 mol) wasserfreies Natriumacetat wurden in einem mit Thermometer versehenen 1 l - Dreihalskolben bei 140 °C Badtemperatur unter Rückfluß erhitzt. Im Verlauf von 36 Stunden stieg mit fortschreitender Umsetzung der Siedepunkt der Lösung von 86 °C zu Beginn langsam auf 127 °C an. Das tiefgelbe Gemisch wurde nach Abkühlung vorsichtig in eine Lösung von 600 g Kaliumhydrogencarbonat in zwei Litern Wasser gegossen und fünf Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nach Abtrennen der

organischen Phase, zweimaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit Essigsäureethylester, Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Destillation bei Normaldruck wurden zwei Fraktionen mit reinem Produkt erhalten : 76,04 g und 51,86 g farbloser Flüssigkeit jeweils vom Siedepunkt 124 - 127 °C. Zwei weitere, ebenfalls noch produkthaltige Fraktionen des Siedebereichs 122 - 140 °C lieferten nach nochmaliger Destillation über eine Vigreux-Kolonne 13,48 g reinen Essigsäureisobutenylesters vom Siedepunkt 124 - 127 °C. Die Gesamtausbeute betrug somit 140,7 g (61 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,64 (s, 3 H, CH_3), 1,67 (s, 3 H, CH_3), 2,09 (s, 3 H, $-\text{OCOCH}_3$), 6,78 (m, 1 H, $\text{C}=\text{C}-\text{H}$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2915 m (aliph. CH), 1740 s ($\text{C}=\text{O}$), 1695 m ($\text{C}=\text{C}$), 1440 m, 1365 s, 1215 s ($\text{C}-\text{O}$), 1110 s ($\text{C}-\text{O}$), 1045 m, 985 w, 920 m, 810 m.

10.2. 4-Acetoxy-3,3-dimethylazetidin-2-on (18)³³

25 ml (23,3 g, 0,2 mol) Isobutenylacetat 16 wurden in einem 250 ml - Dreihalskolben mit Thermometer und Tropftrichter vorgelegt und mit einer Eis/Kochsalz-Mischung auf etwa - 5 °C gekühlt. 4,35 ml (7,1 g, 0,05 mol) auf 0 °C vorgekühltes Chlorsulfonylisocyanat wurden so langsam hinzuge-

tropft, daß die Reaktionstemperatur nicht über 0 °C stieg. Das Reaktionsgemisch ließ man 17 - 18 Stunden bei 0 °C stehen und überprüfte dann anhand eines IR-Spektrums der nunmehr tiefgelben Lösung auf Vollständigkeit der Umsetzung. Nun wurde die Lösung auf - 30 °C gekühlt und über einen kühlbaren Tropftrichter zu einer eiskalten Suspension von 13 g Natriumhydrogencarbonat und 0,6 g Natriumsulfit in 50 ml Wasser getropft. Auch im Verlauf dieser Hydrolysereaktion war ein Ansteigen der Temperatur über 0 °C unbedingt zu vermeiden. Nach eindreiviertel Stunden Rühren bei 0 °C wurde die neutrale organische Phase abgetrennt und die wäßrige Phase sechsmal mit je 50 ml Ether extrahiert. Trocknung der gesamten organischen Phase mit Magnesiumsulfat und Abziehen des Ethers sowie überschüssigen Isobuterylacetats im Vakuum ergaben ein gelbes, öliges Rohprodukt, das durch eine Säulenchromatographie mit 50 g Kieselgel und Methylenchlorid/Essigsäureethylester (1 : 1) als Fließmittel gereinigt wurde. Von 13 Fraktionen zu 50 ml lieferten die Fraktionen 2 mit 4 4,37 g (45 %) einer farblosen, hochviskosen Flüssigkeit, die durch Animpfen zur Kristallisation gebracht wurde.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,21 (s, 3 H, 3- CH_3), 1,33 (s, 3 H, 3- CH_3), 2,10 (s, 3 H, $-\text{OCOCH}_3$), 5,49 (s, 1 H, 4-H), 7,03 (s, breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3400 s (NH), 2950 m (aliph. CH),
1775 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1465 m
(C-H Def.), 1360 s (CH_3 -Def.), 1230 s (C-O), 1145 m, 1050 s,
995 m, 915 w, 865 w.

DC : $R_f = 0,20$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

10.3. 4-t-Butylthio-3,3-dimethylazetidin-2-on (19)

20,6 ml (20,9 g, 137 mmol) DBU wurden zu einer unter
0 °C gekühlten klaren Lösung von 19,7 g (125 mmol) 18 und
15,6 ml (12,4 g, 137 mmol) t-Butylmercaptan in 100 ml
trockenem THF so langsam hinzugetropft, daß eine Reaktions-
temperatur von 0 °C nicht überschritten wurde. Die nach
zweistündigem Rühren bei 0 °C gelbe Lösung wurde noch über
Nacht bei Raumtemperatur gerührt, dann in 500 ml Methylen-
chlorid aufgenommen und viermal mit je 100 ml 2 n Salzsäu-
re, zweimal mit je 100 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung
sowie 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Trock-
nung der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Filtration
und Abdestillieren des Lösungsmittels bei Normaldruck und
dann bei 10 Torr sowie Badtemperaturen von 70 - 80 °C lie-
ferten einen blaßgelben, festen Rückstand. Nach zweimaligem
Eindampfen in Methylenchlorid unter den gleichen Bedingun-
gen wurde das Rohprodukt über 400 g Kieselgel mit einem

4 : 1 - Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester chromatographisch gereinigt. Von 33 Fraktionen zu je 200 ml ergaben die Fraktionen 16 - 32 insgesamt 13,48 g (59 %) farbloser, $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch reiner Substanz.

Ein Nebenprodukt mit geöffnetem β -Lactam-Ring wurde hierbei abgetrennt. Im Dünnschichtchromatogramm erkennbare Spuren der Verunreinigung im Produkt ließen sich durch nochmalige Chromatographie mit Toluol/Essigsäureethylester und Umkristallisieren aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch entfernen. Das analysenreine Produkt besaß einen Schmelzpunkt von 122,5 - 123,5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,22 (s, 3 H, 3- CH_3), 1,36 (s, 12 H, 3- CH_3 und t-Butyl), 4,50 (s, 1 H, 4-H), 6,69 (s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3405 m (NH), 2965 m, 2895 w und 2860 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1460 m (C-H Def.), 1390 m und 1370 m (t-Butyl), 1340 w, 1200 m, 1155 m, 1115 w, 985 w, 950 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_9\text{H}_{17}\text{NOS}$ (187,31)

Ber.: C 57,71 H 9,15 N 7,48 S 17,12

Gef.: C 57,99 H 9,23 N 7,46 S 17,18

DC : R_f = 0,27 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Intensive Anfärbung mit Jod.

10.4. (4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
essigsäureethylester (20)

Zu einer bei Raumtemperatur kräftig gerührten Lösung von 470 mg (2,51 mmol) 19, 458 mg (2,74 mmol) Bromessigsäureethylester und 82 mg (0,25 mmol) Tetrabutylammoniumbromid in 10 ml trockenem Acetonitril wurden im Stickstoffstrom innerhalb von 15 Minuten 173 mg (3,08 mmol) pulverisiertes getrocknetes Kaliumhydroxid gegeben. Nach zwanzig Stunden wurden weitere 447 mg (2,68 mmol) Bromessigsäureethylester zugesetzt und die Reaktion noch 3,5 Stunden fortgesetzt, bis ein Dünnschichtchromatogramm des Reaktionsgemisches keine Veränderung mehr zeigte. Ein geringer Teil des Ausgangsmaterials wurde nicht umgesetzt. Das Reaktionsgemisch wurde in 100 ml Toluol aufgenommen und der Festkörper abfiltriert. Nach Waschen des Filtrats mit zweimal 30 ml gesättigter Kochsalzlösung und zweimal 30 ml Wasser, nochmaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit 30 ml Toluol und Trocknung der vereinigten organischen Lösungen über Natriumsulfat wurden Lösungsmittel und überschüssiger Bromessigsäureethylester im Vakuum zunächst bei Raumtemperatur und dann unter Erhitzen auf 100 - 120 °C entfernt. Der flüssige gelbe Rückstand wurde chromatographisch über eine mit 15 g Kieselgel beladene Säule mit Toluol/Essigsäureethylester (9 : 1) als Fließmittel gereinigt. Von 24 Fraktionen zu je 5 ml ergaben die Fraktionen 6 - 13 nach Abziehen des Lösungsmittels, zweimaligem Eindampfen in Methylen-

chlorid und Trocknung bei 2 Torr und 70 °C 466 mg (68 %) 20.

Das Produkt wurde zusammen mit dem aus einem zweiten Ansatz gewonnenen Material bei 10^{-3} Torr und Badtemperaturen von 140 - 170 °C destilliert und als farblose, analysenreine Flüssigkeit erhalten, deren Schmelzpunkt bei etwa 15 - 17 °C lag.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,22 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,27 (t, J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 1,31 (s, 9 H, t-Butyl), 1,39 (s, 3 H, 3'- CH_3), 3,63 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,19 (q, J = 7 Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 4,21 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,69 (s, 1 H, 4'-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2970 m, 2935 w, 2905 w und 2865 w (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1465 w und 1410 m (C-H Def.), 1370 m (t-Butyl), 1350 w, 1275 w, 1205 s (C-O), 1165 w, 1135 w, 1100 m, 1020 m, 940 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_{13}\text{H}_{23}\text{NO}_3\text{S}$ (273,40)

Ber.: C 57,11 H 8,48 N 5,12 S 11,73

Gef.: C 56,98 H 8,56 N 5,17 S 11,73

DC : R_f = 0,46 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Anfärbung mit Jod

10.5. (4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyI)-
essigsäure-p-nitrobenzylester (21)

In einem mit Thermometer versehenen 250 ml - Dreihalskolben wurde eine Lösung von 4,682 g (25,0 mmol) 19 und 10,282 g (37,5 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 100 ml trockenem THF vorgelegt und auf - 5 °C gekühlt. 3,396 g (30,3 mmol) Kalium-t-butylat wurden im Stickstoffstrom innerhalb von 40 Minuten portionsweise so hinzugegeben, daß die Temperatur der Mischung nicht über 0 °C stieg. Der zunächst tiefrot gefärbte Ansatz hellte sich während eines zweistündigen Rührens bei Temperaturen zwischen - 5 und 0 °C etwas auf. Anschließend wurde der Kolbeninhalt in einem Liter Toluol aufgenommen und mit zweimal 250 ml 2 n Salzsäure, 250 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und 250 ml Wasser gewaschen. Nach nochmaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit 100 ml Toluol wurden die vereinigten organischen Lösungen mit Magnesiumsulfat getrocknet. Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer ergab ein intensiv orange gefärbtes Öl, das zur Reinigung über 360 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1 als Fließmittel chromatographiert wurde. Es wurden 5 Fraktionen zu je 100 ml, 30 Fraktionen zu je 30 ml und nochmals 2 Fraktionen zu je 100 ml genommen. Die Fraktionen 15 - 18 lieferten 1,193 g nahezu ¹H-NMR-spektroskopisch reinen Produkts, das jedoch im Dünnschichtchromatogramm erhebliche Verunreinigungen zeigte. Aus den Fraktionen

19 - 37 wurden 4,068 g (43 %) geringfügig verunreinigten Produkts isoliert. Eine Umkristallisation des relativ reinen Materials aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch ergab 3,138 g (Fp. 142,5 - 144,5 °C) und in einer zweiten Fraktion noch 316 mg nunmehr auch DC-reiner Substanz. Die Gesamtausbeute betrug 3,454 g (36 %).

Analysenrein wurde die Substanz erhalten, als man sie nochmals mit Toluol/Essigsäureethylester 9 : 1 chromatographierte und erst dann aus Methylenchlorid/Hexan umkristallisierte.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,22 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,28 (s, 9 H, t-Butyl), 1,38 (s, 3 H, 3'- CH_3), 3,75 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,27 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,64 (s, 1 H, 4'-H), 5,24 (s, 2 H, -O- CH_2 -Ar), 7,48 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,19 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m, 2925 w und 2860 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1750 s (Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1530 s (NO_2), 1460 w und 1405 w (C-H Def.), 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1210 m, 1185 s (C-O), 1135 w, 1105 m, 930 m, 860 w, 850 w (Ar-H), 805 w.

UV (Dioxan) : λ_{max} = 265 nm (ϵ = 10040)

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (380,46)

Ber.: C 56,83 H 6,35 N 7,36 S 8,43

Gef.: C 56,57 H 6,57 N 7,13 S 8,40

DC : $R_f = 0,44$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.6. (4-t-Butylsulfinyl-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
essigsäure-p-nitrobenzylester (29)

Zu einer Lösung von 1144 mg (3,01 mmol) 21 in 100 ml trockenem Methylenchlorid wurden bei - 10 °C innerhalb einer Stunde zunächst 518 mg (2,70 mmol) und nach insgesamt zwei Stunden nochmals 52 mg (0,27 mmol) 90%iger m-Chlorperbenzoesäure gegeben. Nach dreißigminütigem Rühren bei - 10 °C wurde mit Methylenchlorid auf ein Volumen von 200 ml verdünnt und die Lösung mit 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung, zweimal 100 ml einer 10%igen Natriumhydrogensulfitlösung und weiteren 100 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 100 ml Methylenchlorid extrahiert. Trocknung der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat, Filtration, Eindampfen des Filtrats im Vakuum und fünfstündige Trocknung des Rückstandes im Hochvakuum bei 60 - 80 °C ergaben ein öliges, gelbes Produkt. Zur Reinigung wurde eine Säulenchromatographie über 30 g Kieselgel durchgeführt. Als Fließmittel wurden ein Toluol/Essigsäureethylester-Gemisch 4 : 1 bzw. Essigester verwendet. Es wurden 5 Fraktionen zu je 10 ml und nach Wechsel des Fließmittels noch insgesamt 79 Fraktionen von 5 ml, dann 10 ml und schließlich 20 ml Inhalt genommen. Aus den

Fraktionen 71 - 78 wurden 849 mg hellgelben Festkörpers isoliert. Die Fraktionen 79 - 81 lieferten noch 115 mg eines etwas verunreinigten Produkts. Die Gesamtausbeute betrug somit 964 mg (80 %).

348 mg der reinen Fraktionen wurden zweimal aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Nach Abtrennung eines zuerst abgeschiedenen Öls wurden 181 mg blaßgelber Nadeln vom Schmelzpunkt 93,5 - 95,5 °C erhalten. Eine zweite Kristallfraktion lieferte noch 58 mg vom Schmelzpunkt 93,5 - 96,5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,26 (s, 9 H, t-Butyl), 1,40 (s, 6 H, 3'- CH_3), 4,28 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,52 (s, 1 H, 4'-H), 4,55 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 5,27 (s, 2 H, -O- CH_2 -Ar), 7,51 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m und 2860 w (aliph. CH), 1775 s (β -Lactam - C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 w (C-H Def.), 1395 m und 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 w, 1210 m, 1185 s (C-O), 1130 m, 1110 m, 1035 s (S=O), 1015 m, 950 w, 930 w, 860 m, 850 m (Ar-H).

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (396,46)

Ber.: C 54,53 H 6,10 N 7,07

Gef.: C 54,16 H 6,27 N 7,17

DC : $R_f = 0,12$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.7. [3,3-Dimethyl-4- [(5,5-dimethyl-3-oxo-cyclohex-1-enyl)oxy] -2-oxo-1-azetidiny] essigsäure-p-nitrobenzylester (30)

Eine Lösung von 249 mg (0,63 mmol) 29, 266 mg (1,90 mmol) Dimedon und 315 μ l (331 mg, 2,67 mmol) Trimethylphosphit in 12,5 ml Benzol wurde unter Stickstoff 61 Stunden lang zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die gelbe Lösung in 25 ml Essigsäureethylester aufgenommen und mit 12,5 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 12,5 ml Essigsäureethylester extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phase über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel im Vakuum abgezogen und der Rückstand über 12 g Kieselgel mit einem Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester (7 : 1) als Fließmittel chromatographisch gereinigt. Es wurden 90 Fraktionen zu je 20 ml genommen. Die Fraktionen 18 - 40 lieferten 158 mg (59 %) Produkt.

Nach Kristallisation aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch wurden 99 mg analysenreinen farblosen Produkts vom Schmelzpunkt 123 - 125 °C erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,06 (s, 6 H, 2 CH_3), 1,18 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,41 (s, 3 H, 3'- CH_3), 2,18 (s, 2 H, $-\text{CH}_2-$), 2,28 (s, 2 H, $-\text{CH}_2-$), 3,75 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,33 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 5,16 (s, 1 H, $-\text{O}-\text{C}=\text{C}-\text{H}$), 5,24 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,34 (s, 1 H, 4'-H), 7,47 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,18 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m und 2870 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - $\text{C}=\text{O}$), 1755 s (Ester - $\text{C}=\text{O}$), 1670 s ($\text{C}=\text{O}$ des α, β -ungesätt. Ketons), 1615 s ($\text{C}=\text{C}$), 1530 s (NO_2), 1470 m (C-H Def.), 1380 m (CH_3 -Def.), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1205 s ($=\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 1155 m, 1125 m, 1045 m ($=\text{C}-\text{O}-\text{C}-$), 1025 w, 1005 w, 995 w, 965 w, 860 w (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 250 nm (ϵ = 22030)

Elementaranalyse : $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7$ (430,46)

Ber.: C 61,39 H 6,09 N 6,51

Gef.: C 61,41 H 6,04 N 6,53

DC : R_f = 0,18 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.8. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
3-hydroxybut-2-ensäure-p-nitrobenzylester (23 a)

In einem Doppelansatz wurden jeweils 20 ml trockenes THF in einem mit Septum und Hahn versehenen 50 ml - Zweihalskolben unter Stickstoff auf - 78 °C gekühlt. Es wurden zunächst je 5 ml einer 1 m Lösung (5 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und nach etwa 10 Minuten eine Lösung von 761 mg (2,00 mmol) 21 in 6 ml trockenem THF hinzugegeben, worauf eine sehr tiefgefärbte - fast schwarze - Lösung entstand. Nach 15minütigem Rühren bei - 78 °C erfolgte die Zugabe von jeweils 170 µl (188 mg, 2,40 mmol) Acetylchlorid. Im Anschluß daran wurden die Lösungen weitere 36 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt und nach Entfernen des Kühlbades mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt. Beide Reaktionslösungen wurden sodann mit 200 ml Toluol verdünnt und jeweils mit 100 ml einer auf das doppelte Volumen verdünnten gesättigten Kochsalzlösung, 100 ml 2 n Salzsäure und nochmals 100 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrigen Phasen wurden mit 50 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknung der organischen Phasen über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum verblieben aus beiden Ansätzen orangefarbige, zähflüssige Rohprodukte, die vereinigt und über 50 g Kieselgel mit einem aus Toluol und Essigsäureethylester (4 : 1) bestehenden Fließmittelgemisch chromatographisch gereinigt wurden. Es wurden 30 Fraktionen zu je 10 ml genommen, von

denen die Fraktionen 7 - 26 nach Abziehen des Lösungsmittels, dreimaligem Eindampfen des Rückstandes in Ether und Trocknung im Hochvakuum 1158 mg (69 %) einer fahlgelben, DC- und ^1H -NMR-spektroskopisch reinen Festsubstanz lieferten.

Für analytische Zwecke wurde so erhaltenes Material ein zweites Mal über Kieselgel mit Tetrachlorkohlenstoff/Essigsäureethylester 9 : 1 chromatographiert und aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Das analytisch reine Produkt wies einen Schmelzpunkt von 88,5 - 90,5 °C auf.

^1H -NMR (CDCl_3) : δ = 1,19, 1,27 und 1,39 (3 Signale, 15 H, t-Butyl und 3'- CH_3), 2,12 (s, 3 H, $-\text{C}=\text{C}(\text{OH})-\text{CH}_3$), 4,58 (s, 1 H, 4'-H), 5,26 und 5,28 (2 s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,47 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,17 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 12,02 und 12,20 (2 s, 1 H, Enol-H der E- und Z-Form).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m und 2865 w (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1660 s (Ester - C=O), 1610 s (C=C), 1530 s (NO_2), 1385 m und 1370 s (t-Butyl), 1355 s (NO_2), 1230 s (C-O), 1145 m, 1100 m, 1065 m, 1045 w, 1015 w, 980 m, 855 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 265 nm (ϵ = 19380)

Elementaranalyse : $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (422,50)

Ber.: C 56,86 H 6,20 N 6,63 S 7,59

Gef.: C 56,84 H 6,16 N 6,72 S 7,60

DC : $R_f = 0,43$ (Langgezogener Fleck, Toluol/Essigsäure-
ethylester 1 : 1)

10.9. 2-(4-t-Butylsulfinyl-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
3-hydroxybut-2-ensäure-p-nitrobenzylester (27)

Eine Lösung von 213 mg (0,50 mmol) 23 a in 5 ml trockenem Methylenchlorid wurde bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Verlaufe von 30 Minuten portionsweise mit 96 mg (0,50 mmol) 90%iger m-Chlorperbenzoesäure versetzt. Die nunmehr trübe Lösung wurde noch 15 Minuten bei $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ gerührt und dann mit 20 ml Methylenchlorid verdünnt. Die organische Lösung wurde nun mit 15 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung, dreimal 10 ml 10%iger Natriumhydrogensulfitlösung und abermals 10 ml gesättigter Natriumcarbonatlösung gewaschen. Nach nochmaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit 10 ml Methylenchlorid wurden die vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat getrocknet und dann am Rotationsverdampfer eingeeengt. Reinigung und Trennung der entstandenen beiden isomeren Sulfoxide erfolgten durch Chromatographie über 8,1 g Kieselgel unter Elution mit den folgenden Fließmittelgemischen : Toluol/Essigsäureethylester 3 : 1 (35 Fraktionen zu je 8 ml) und Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1 (9 Fraktionen zu je 8 ml, 4 Fraktionen zu je 15 ml und eine Fraktion zu 50 ml). Die Fraktionen 8 - 18 ergaben 83 mg eines blaßgelben Öls, das nach kurzer Zeit kristallisierte,

und die Fraktionen 28 - 49 zusammen 62 mg eines gelblichen Harzes.

Das aus den Fraktionen 8 - 18 isolierte Sulfoxid I wurde aus Methylenchlorid/Hexan umkristallisiert, wobei 63 mg blaßgelber Nadeln vom Schmelzpunkt 122 - 123 °C erhalten wurden.

Sulfoxid I :

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,20 (s, 9 H, t-Butyl), 1,34 (s, 3 H, 3'-CH₃), 1,47 (s, 3 H, 3'-CH₃), 2,37 (s, 3 H, -C=C(OH)CH₃), 4,37 (s, 1 H, 4'-H), 5,17 (d, J = 13,5 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 5,37 (d, J = 13,5 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 7,48 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,20 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 11,46 (s, 1 H, Enol-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2945 m (aliph. CH), 1785 s (β -Lactam - C=O), 1715 s (Ester - C=O), 1595 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1455 w (C-H Def.), 1385 m und 1365 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1300 w, 1230 m, 1185 w, 1125 m, 1090 m, 1070 s (S=O), 1010 m, 950 w, 850 m, 845 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 262 nm (ϵ = 17630)

Elementaranalyse : $\text{C}_{20}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ (438,50)

Ber.: C 54,78 H 5,98 N 6,39 S 7,31

Gef.: C 54,94 H 6,01 N 6,22 S 7,32

DC : $R_f = 0,24$ (Langgezogener Fleck, Toluol/Essigsäure-
ethylester 1 : 1)

Auf die Reinigung und Charakterisierung des isomeren Sulf-
oxids mit niedrigem R_f -Wert wurde verzichtet.

10.10. 3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] -
hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 a)

A) Zu einer Lösung von 211 mg (0,50 mmol) 23 a in 20 ml trockenem Methylenchlorid wurden bei 0 °C 2,0 ml einer Lösung von 0,471 g Chlor in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff (94 mg, 1,33 mmol) gegeben. Nach 15minütigem Rühren bei 0 °C wurde die inzwischen leicht getrübbte Lösung mit 100 ml Methylenchlorid verdünnt und mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung, 100 ml 0,2 n Natronlauge und weiteren 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 20 ml Methylenchlorid extrahiert.

Das Chlorierungsprodukt wurde ohne weitere Charakterisierung (das Enol war jedoch vollständig umgesetzt) nach dem Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Trocknung im Vakuum bei 50 °C sofort weiter eingesetzt.

Eine Lösung der erhaltenen 234 mg noch etwas feuchten Produkts in 30 ml trockenem DMF wurde wiederum bei 0 °C innerhalb von 15 Minuten so mit 154 mg (1,16 mmol) Natriumthiophenolat versetzt, so daß sie sich nicht über 1 °C er-

wärmte. Die Lösung wurde unter Dunkelfärbung 25 Minuten bei 0 °C gerührt und anschließend mit 200 ml Benzol verdünnt. Die organische Phase wurde mit zweimal 100 ml und zweimal 50 ml 0,5 m Phosphatpuffer pH 7 gewaschen und mit Magnesiumsulfat getrocknet. Da noch sehr viel DMF in der organischen Phase verblieben war, wurde nach Abziehen des Lösungsmittels wieder in 200 ml Benzol aufgenommen und die organische Lösung noch viermal mit je 100 ml Wasser gewaschen. Erneutes Trocknen und Eindampfen der organischen Lösung lieferten ein gelbes Öl, das über 10 g Kieselgel mit einem 97 : 3 - Gemisch aus Benzol und Essigsäureethylester als Fließmittel chromatographisch gereinigt wurde. Es wurden 30 Fraktionen zu je 1,5 ml und 24 Fraktionen zu je 3 ml genommen. Die Fraktionen 23 - 39 lieferten 34 mg (20 %) an 26 a (IR; NMR).

B) Eine Lösung von 169 mg (0,40 mmol) 23 a in 100 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren zusammen mit 273 mg (1,00 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 218 mg (1,00 mmol) gelbem Quecksilber(II)oxid eineinhalb Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die überstehende, leicht getrübe Lösung von unlöslichen Quecksilberverbindungen abpipettiert und zehn Minuten bei 3000 Upm zentrifugiert. Die nunmehr klare Lösung wurde auf ein Volumen von etwa 5 ml eingengt, mit 100 ml Benzol verdünnt und mit 50 ml gesättigter Kochsalzlösung, 50 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung pH 7 und weiteren 50 ml gesättigter Kochsalz-

Lösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 20 ml Benzol extrahiert. In benzolischer Lösung ausgefallene Quecksilberbestandteile wurden während des Waschens und des anschließenden Trocknens über Magnesiumsulfat entfernt. Das nach Abziehen des Lösungsmittels erhaltene ölige Produkt wurde mehrmals in Methylenchlorid und Tetrachlorkohlenstoff eingedampft bis zur Kristallisation und dann über 3,6 g Florisil mit Benzol/Essigsäureethylester 7 : 1 als Fließmittelgemisch chromatographisch gereinigt. Es wurden 20 Fraktionen zu je 1,5 ml und 20 Fraktionen zu je 3 ml genommen. Die Fraktionen 3 - 8 ergaben 78 mg (58 %) blaßgelber Festsubstanz.

Durch Umkristallisieren aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch ließ sich das Produkt analysenrein erhalten. Fast farblose, in Büscheln kristallisierende Nadeln vom Schmelzpunkt 116,5 - 119 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,30 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,48 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,25 (s, 3 H, 3- CH_3), 5,03 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,37 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,46 (s, 1 H, 5-H), 7,51 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,12 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2930 w (aliph. CH), 1805 s (β -Lactam - C=O), 1710 s (Ester - C=O), 1630 s (C=C), 1605 m, 1525 s (NO_2), 1380 m (C-H Def.), 1345 s (NO_2), 1330 s (C-O), 1295 w, 1160 m, 1095 s (C-O), 1050 w, 1025 w, 1010 m, 985 m, 950 w, 925 w, 850 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : $\lambda_{\max} = 273,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 16050$)

MS (70 eV, 80 °C) : $m/e = 332 \text{ M}^+$, 304 (-CO), 290 ($-\text{C}_2\text{H}_2\text{O}$),
263 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 217, 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 111,
70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), 55 ($\text{C}_3\text{H}_3\text{O}^+$).

Elementaranalyse : $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$ (332,32)

Ber.: C 57,83 H 4,85 N 8,43

Gef.: C 57,78 H 5,07 N 8,11

DC : $R_f = 0,59$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Von der kristallisierten Substanz konnte eine Röntgen-
strukturanalyse durchgeführt werden.

Kristalldaten von 26 a :

Präparat : Farblose, teilweise verwachsene
Nadeln. Ein Kristallteilstück wurde
mit Canada-Balsam aufgeklebt und
lackiert.

Kristallgröße : 0,3 x 0,6 x 0,1 mm

Kristallsystem : triklin

Raumgruppe : $P \bar{1}$

$a = 9,7573 (29) \text{ \AA}$, $b = 14,1004 (33) \text{ \AA}$,
 $c = 14,3712 (46) \text{ \AA}$

$$\alpha = 64,106 (20)^\circ, \beta = 69,330 (24)^\circ, \\ \gamma = 72,099 (21)^\circ$$

Volumen : $1636,41 (82) \text{ \AA}^3$

Moleküle pro Elementarzelle : 4

Röntgenographische

Dichte : $1,349 \text{ g/cm}^3$

Messungen am Syntex R 3 - Diffraktometer; Lösung mit
Shel XTL 4.1 - Programm (August 1983).

Reflexbreite : $0,8^\circ$

Meßzeiten : $4^\circ - 29,3^\circ (\text{°/min})$

Meßbedingungen : ω -Scan; Mo- K_α -Strahlung; $0,71069 \text{ \AA}$;
Graphitmonochromator; Raumtemperatur.

Meßbereich : 2θ ; $4^\circ - 46^\circ$; 9107 Reflexe gemessen;
3326 Reflexe ($I > 2\sigma(I)$).

$R = 0,0654$; $RW = 0,0581$

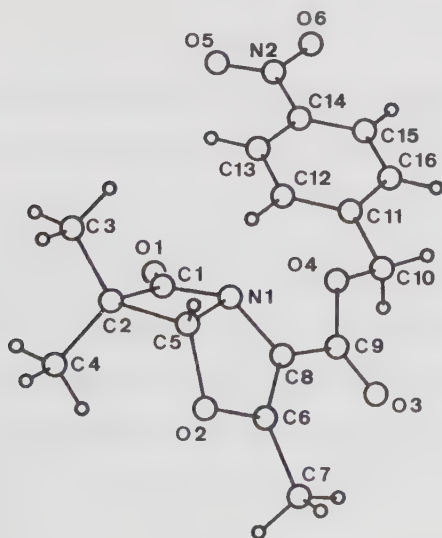
Tabelle 10 : Atomkoordinaten für 26 a

Atom	X/A	Y/B	Z/C
C(1)	0,89792(32)	0,95318(24)	0,31673(25)
C(2)	0,85501(33)	0,97515(25)	0,21592(25)
C(3)	0,90040(39)	0,87873(28)	0,18310(28)
H(3A)	1,00193(39)	0,87485(28)	0,14117(28)
H(3B)	0,83690(39)	0,88612(28)	0,14141(28)
H(3C)	0,89100(39)	0,81443(28)	0,24580(28)
C(4)	0,90267(40)	1,07692(28)	0,12525(28)
H(4A)	0,87421(40)	1,08784(28)	0,06332(28)
H(4B)	1,00883(40)	1,06981(28)	0,10826(28)
H(4C)	0,85514(40)	1,13716(28)	0,14701(28)
C(5)	0,69321(34)	0,98797(25)	0,28511(25)
H(5)	0,62739(34)	0,95377(25)	0,27889(25)
C(6)	0,59793(33)	1,11628(25)	0,35755(29)
C(7)	0,49882(39)	1,21811(29)	0,36433(36)
H(7A)	0,49395(39)	1,22346(29)	0,42980(36)
H(7B)	0,40077(39)	1,21894(29)	0,36300(36)
H(7C)	0,53774(39)	1,27766(29)	0,30469(36)
C(8)	0,67326(32)	1,03632(25)	0,42537(26)
C(9)	0,67983(34)	1,02858(29)	0,52723(29)
C(10)	0,76998(37)	0,91680(31)	0,68172(28)
H(10A)	0,78946(37)	0,98073(31)	0,67917(28)
H(10B)	0,67857(37)	0,90002(31)	0,73443(28)
C(11)	0,89518(36)	0,82565(28)	0,71025(26)

Atom	X/A	Y/B	Z/C
C(12)	1,02090(35)	0,80484(28)	0,63328(28)
H(12)	1,02784(35)	0,84881(28)	0,55916(28)
C(13)	1,13643(37)	0,72192(28)	0,66141(27)
H(13)	1,22262(37)	0,70722(28)	0,60763(27)
C(14)	1,12546(39)	0,66133(29)	0,76779(28)
C(15)	1,00411(44)	0,68022(34)	0,84560(30)
H(15)	0,99938(44)	0,63786(34)	0,91979(30)
C(16)	0,88933(43)	0,76138(33)	0,81530(29)
H(16)	0,80204(43)	0,77360(33)	0,86957(29)
N(1)	0,74884(25)	0,95562(19)	0,38001(19)
N(2)	1,25089(36)	0,57468(26)	0,79727(26)
O(1)	1,00994(21)	0,93854(18)	0,34145(18)
O(2)	0,61250(23)	1,09758(17)	0,26878(19)
O(3)	0,62226(25)	1,09740(20)	0,56478(21)
O(4)	0,75851(24)	0,93342(19)	0,57767(17)
O(5)	1,35071(32)	0,55156(23)	0,72734(24)
O(6)	1,24962(41)	0,52771(29)	0,89096(26)
C(17)	0,08071(35)	1,57024(26)	0,18047(25)
C(18)	0,24862(32)	1,54864(25)	0,16339(25)
C(19)	0,32247(39)	1,64445(30)	0,08496(30)
H(19A)	0,27026(39)	1,70608(30)	0,10362(30)
H(19B)	0,31976(39)	1,65874(30)	0,01385(30)
H(19C)	0,42412(39)	1,62903(30)	0,08789(30)
C(20)	0,32711(37)	1,44841(27)	0,13760(29)
H(20A)	0,27727(37)	1,38974(27)	0,18812(29)

Atom	X/A	Y/B	Z, C
H(20B)	0,42851(37)	1,43113(27)	0,14165(29)
H(20C)	0,32538(37)	1,46116(27)	0,06668(29)
C(21)	0,21085(32)	1,53494(24)	0,28203(24)
H(21)	0,26944(32)	1,56644(24)	0,29838(24)
C(22)	0,07750(34)	1,41213(25)	0,41780(24)
C(23)	0,06585(39)	1,31062(26)	0,51269(26)
H(23A)	-0,03721(39)	1,30723(26)	0,54865(26)
H(23B)	0,11588(39)	1,30814(26)	0,56070(26)
H(23C)	0,11133(39)	1,25085(26)	0,49000(26)
C(24)	-0,02540(32)	1,49472(23)	0,37788(22)
C(25)	-0,18574(34)	1,50887(25)	0,41954(23)
C(26)	-0,41139(33)	1,62708(30)	0,38686(26)
H(26A)	-0,44870(32)	1,56241(30)	0,41129(26)
H(26B)	-0,44981(32)	1,65669(30)	0,44182(26)
C(27)	-0,45864(31)	1,70657(24)	0,28802(24)
C(28)	-0,36519(34)	1,71738(28)	0,18742(26)
H(28)	-0,26611(34)	1,67596(28)	0,18001(26)
C(29)	-0,41389(35)	1,78782(28)	0,09754(27)
H(29)	-0,34957(35)	1,79499(28)	0,02749(27)
C(30)	-0,55345(34)	1,84735(25)	0,10892(27)
C(31)	-0,64762(36)	1,83873(25)	0,20786(29)
H(31)	-0,74571(36)	1,88167(25)	0,21478(29)
C(32)	-0,59934(33)	1,76772(26)	0,29686(27)
H(32)	-0,66493(33)	1,76072(26)	0,36651(27)
N(3)	0,05183(25)	1,57136(19)	0,28401(19)

Atom	X/A	Y/B	Z/C
N(4)	-0,60479(32)	1,92142(25)	0,01282(24)
O(7)	-0,00316(25)	1,58132(21)	0,13120(18)
O(8)	0,22010(22)	1,42602(16)	0,35999(16)
O(9)	-0,25351(24)	1,44375(17)	0,49565(16)
O(10)	-0,25040(21)	1,60442(17)	0,36102(16)
O(11)	-0,52463(32)	1,92406(26)	-0,07341(21)
O(12)	-0,72581(31)	1,97838(26)	0,02473(26)



$C\ 17 \cong C\ 1$, $C\ 18 \cong C\ 2$, $C\ 19 \cong C\ 3$, $C\ 20 \cong C\ 4$, $C\ 21 \cong C\ 5$,
 $C\ 22 \cong C\ 6$, $C\ 23 \cong C\ 7$, $C\ 24 \cong C\ 8$, $C\ 25 \cong C\ 9$, $C\ 26 \cong C\ 10$,
 $C\ 27 \cong C\ 11$, $C\ 28 \cong C\ 12$, $C\ 29 \cong C\ 13$, $C\ 30 \cong C\ 14$,
 $C\ 31 \cong C\ 15$, $C\ 32 \cong C\ 16$, $N\ 3 \cong N\ 1$, $N\ 4 \cong N\ 2$, $O\ 7 \cong O\ 1$,
 $O\ 8 \cong O\ 2$, $O\ 9 \cong O\ 3$, $O\ 10 \cong O\ 4$, $O\ 11 \cong O\ 5$, $O\ 12 \cong O\ 6$.

10.11. 3,6,6-Trimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] -
hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 a)

60 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) und 8,7 mg (103 μmol) Natriumhydrogencarbonat wurden bei 0 °C in einem Gemisch aus 4 ml Essigsäureethylester und 2 ml Wasser vorhydriert; dann wurde eine Lösung von 34,4 mg (103 μmol) 26 a in 2 ml Essigsäureethylester über ein Septum in das Reaktionsgefäß eingespritzt und bei 0 °C hydriert. Nach etwa 35 Minuten nahm die Lösung keinen Wasserstoff mehr auf. Der Gesamtverbrauch an Wasserstoff betrug 11,3 ml (errechnet wurde für 0 °C und 760 Torr ein Verbrauch von 9,3 ml = 4 Äq. Wasserstoff). Das zweiphasige Reaktionsgemisch wurde mit 8 ml kaltem Wasser und 10 ml Essigsäureethylester verdünnt und der Katalysator mittels einer Glasfritte abfiltriert. Die wäßrige Phase wurde mit Essigsäureethylester gut gewaschen und abgetrennt. Reste an Essigsäureethylester wurden im Vakuum entfernt. 400 μl dieser Stammlösung wurden auf 10 ml verdünnt. Aus der zu 2,462 ermittelten Extinktion der Lösung ließ sich mit Hilfe des aus der Literatur bekannten Wertes $\epsilon = 5800$ eine Ausbeute von 106 μmol (100 %) errechnen.

Nach Gefriertrocknung von 9 ml der Lösung bei 10^{-3} Torr wurden 16,2 mg eines gelblichen Schaums erhalten. Dies entsprach einer Ausbeute von 79 %.

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 259 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : δ = 1,28 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,42 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,17 (s, 3 H, 3- CH_3), 5,55 (s, 1 H, 5-H).

Nach Eindampfen der Essigsäureethylesterlösung wurde im Rückstand durch $^1\text{H-NMR}$ -Spektroskopie p-Toluidin als zweites Produkt nachgewiesen.

10.12. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
3-hydroxy-4-methoxybut-2-ensäure-p-nitrobenzylester
(23 b)

5 ml einer 1 m Lösung (5 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF wurden bei -78°C in 20 ml trockenem THF gelöst, das in einem mit Septum verschlossenen 50 ml - Schlenkkolben unter Stickstoff vorgelegt wurde. Es wurden nun zunächst eine Lösung von 760 mg (2,00 mmol) 21 in insgesamt 5 ml THF und nach 15 Minuten Rühren zu der inzwischen schwarz gefärbten Reaktionslösung 220 μl (261 mg, 2,41 mmol) Methoxyessigsäurechlorid hinzugefügt. Bei konstant gehaltener Temperatur wurde der Ansatz weitere 36 Minuten gerührt, dann mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt und in völlig gleicher Weise, wie in 10.8. für 23 a bereits beschrieben, aufgearbeitet. Das schließlich aus der Reaktion erhaltene gelbe Öl wurde durch eine Säulenchromatographie über 27,6 g Kieselgel unter Verwendung eines Fließmittelgemisches aus Toluol und Essigsäureethyl-

ester im Verhältnis 7 : 1 gereinigt. Es wurden fünf Fraktionen zu je 30 ml und zehn Fraktionen zu je 1,5 ml genommen, nach Wechsel des Fließmittels (Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1) noch neun Fraktionen zu je 30 ml und zwei Fraktionen zu 100 ml. Die Fraktionen 9 - 24 lieferten 302 mg (33 %) hochviskosen, gelben Produkts.

Zu analytischen Zwecken wurde die Substanz nochmals über 7 g Kieselgel mit Hexan/Essigsäureethylester 4 : 1 gereinigt. Es verblieben 188 mg analysenreinen Materials.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,21, 1,24, 1,28, 1,36 und 1,39 (5 Signale, 15 H, t-Butyl und 3'- CH_3), 3,41 (s, 3 H, $-\text{O}-\text{CH}_3$), 4,14 (s), 4,24 (breites s mit Schulter), 4,60 (s), 4,76 - 4,86 (mehrere kleine Signale), 5,21 - 5,32 (mehrere kleine Signale) und 5,32 (s), zusammen ca. 5,2 H ($-\underline{\text{CH}}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, 4'-H, 2-H und $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,53 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,20 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 12,12 (s breit, $\sim$ 0,8 H, Enol-H).

Die Verbindung lag größtenteils in der Enolform vor (vgl. auch IR). Das offensichtlich aus dem Gemisch der isomeren Enole und der isomeren Ketone bestehende Produkt machte die Zuordnung der oftmals überlagerten Banden schwierig.

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m (aliph. CH), 1755 s (β -Lactam - $\text{C}=\text{O}$), 1665 m (Ester - $\text{C}=\text{O}$), 1610 m ($\text{C}=\text{C}$), 1530 s (NO_2), 1455 w (C-H Def.), 1385 m und 1370 m (t-Butyl), 1355 s (NO_2), 1230 s (C-O), 1150 m, 1110 m (C-O), 1055 w, 1035 w, 860 m (Ar-H), 825 w.

UV (Ethanol) : $\lambda_{\max} = 266,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 18770$)

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ (452,53)

Ber.: C 55,74 H 6,24 N 6,19 S 7,08

Gef.: C 55,78 H 6,31 N 5,95 S 7,09

DC : $R_f = 0 - 0,09$ Schleifspur (Toluol/Essigsäureethyl-
ester 1 : 1)

Die Cyclisierung dieser Verbindung gelang nicht.

10.13. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
3-hydroxypent-2-ensäure-p-nitrobenzylester (23 c)

In einem unter Stickstoff stehenden und mit Septum verschlossenen 100 ml - Schlenkkolben wurden 40 ml trockenes THF auf -78°C gekühlt. Die im Abstand von einigen Minuten erfolgende Zugabe von 8 ml einer 1 m Lösung (8 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und einer Lösung von 1522 mg (4,0 mmol) 21 in insgesamt 16 ml trockenem THF führte zu einer intensiv gefärbten - fast schwarzen - Lösung, die nach 12 Minuten Rühren bei -78°C mit 365 μl (389 mg, 4,2 mmol) Propionsäurechlorid versetzt wurde. Während des anschließenden dreißigminütigen Rührens bei gleicher Temperatur hellte die Lösung nach Rot auf. Nach Entfernen des Kühlbades wurde die Lösung noch fünf Minuten

gerührt und mit wenig verdünnter Essigsäure behandelt. Der Inhalt des Kolbens wurde in 400 ml Toluol eingegossen und mit je 200 ml einer auf das doppelte Volumen verdünnten gesättigten Kochsalzlösung, 2 n Salzsäure und nochmals halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 150 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknung der gesamten organischen Phase über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erfolgte eine säulenchromatographische Reinigung des erhaltenen Rohprodukts über 40 g Kieselgel unter Verwendung eines Toluol/Essigsäureethylester-Gemisches (4 : 1) als Fließmittel. Es wurden 24 Fraktionen zu je 7 ml genommen. Die Fraktionen 7 - 24 ergaben 1116 mg (64 %) gelben Harzes.

Eine nochmalige Chromatographie von 240 mg des Produkts über 8,4 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 9 : 1 lieferte 191 mg analysenreiner Substanz.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,12, 1,18, 1,26 und 1,41 (4 s, 18 H, 3'-CH₃, -C=C(OH)-CH₂-CH₃ und t-Butyl), 2,47 (q, J = 7,5 Hz, 2 H, -C=C(OH)-CH₂-CH₃), 4,59 (s, 1 H, 4'-H), 5,26 und 5,32 (2 s, 2 H, -O-CH₂-Ar), 7,52 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 12,21 und 12,39 (2 s, 1 H, Enol-H der E- und Z-Form).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1660 s (Ester - C=O), 1610 s (C=C), 1530 s (NO_2), 1460 w und 1410 m (C-H Def.), 1385 m, 1375 m

und 1365 m (CH_3 -Def. und t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1225 s (C-O), 1145 m, 1100 m, 1050 w, 1015 m, 975 w, 880 w, 850 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : $\lambda_{\text{max}} = 264 \text{ nm}$ ($\epsilon = 20100$)

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (436,53)

Ber.: C 57,78 H 6,47 N 6,42 S 7,35

Gef.: C 57,97 H 6,47 N 6,49 S 7,36

DC : $R_f = 0,50$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.14. 3-Ethyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-
hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 c)

Eine Lösung von 437 mg (1,0 mmol) 23 c in 250 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren zusammen mit 679 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 542 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)oxid eineinhalb Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde die überstehende Lösung vom unlöslichen Bodensatz abpipettiert und zehn Minuten bei 3000 Upm zentrifugiert. Die klare gelbe Lösung wurde im Vakuum auf ein Volumen von etwa 10 ml eingengt, mit 100 ml Benzol verdünnt und über Nacht bei 0 °C aufbewahrt. Ein unterdessen ausgefallener farbloser Niederschlag wurde durch Filtration über Hyflo Super Cel abgetrennt und das

Filtrat wurde mit je 50 ml halbg gesättigter Kochsalzlösung, 0,5 m Phosphatpuffer pH 7 und wiederum halbg gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde noch mit zweimal 20 ml Benzol extrahiert. Ein nach Trocknung der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und Aufnehmen des Rückstandes in Tetrachlorkohlenstoff erneut auftretender farbloser Niederschlag wurde abfiltriert. Das nach Entfernung des Tetrachlorkohlenstoffs verbleibende gelbe Öl wurde über 10 g Florisil chromatographisch gereinigt. Als Fließmittel diente ein Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch (7 : 1). Es ergaben sich 17 Fraktionen zu je 3 ml, von denen die Fraktionen 2 - 10 nach Abziehen des Lösungsmittels, Abtrennung geringer Mengen nochmals auftretenden Niederschlags durch Aufnehmen in Tetrachlorkohlenstoff mit nachfolgender Filtration, Entfernung des Tetrachlorkohlenstoffs im Vakuum, dreimaligem Eindampfen des Rückstandes in Ether und vierstündiger Trocknung im Hochvakuum bei Raumtemperatur 232 mg (67 %) eines gelben Harzes lieferten.

Versuche, das Produkt zu kristallisieren, blieben ohne Erfolg. Für analytische Zwecke wurden daher 179 mg nochmals über 5,4 g Florisil, jetzt mit einem Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch 97 : 3, gereinigt. Es wurden 93 mg hellgelben analysenreinen Harzes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,16 (t, J = 7,5 Hz, 3 H, $-\text{CH}_2-\underline{\text{CH}_3}$), 1,28 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,47 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,69 (q, J = 7,5 Hz, 2 H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{CH}_3$), 5,02 (d, J = 13 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,35 (d, J = 13 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,44 (s, 1 H, 5-H), 7,49 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,09 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 m und 2870 w (aliph. CH), 1802 s (β -Lactam - C=O), 1715 s (Ester - C=O), 1625 s (C=C), 1610 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1465 m (C-H Def.), 1380 m (CH_3 -Def.), 1350 s (NO_2), 1335 s (C-O), 1300 w, 1240 w, 1205 w, 1165 s (C-O), 1105 s (C-O), 1070 m, 1050 m, 1000 m, 920 w, 855 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : λ_{max} = 272,5 nm (ϵ = 16450)

MS (70 eV, 80 °C) : m/e = 346 M^+ , 318 ($-\text{CO}$), 277 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 217, 166 ($-\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{OCO}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), m^* = 222 (346/277).

Elementaranalyse : $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ (346,34)

Ber.: C 58,96 H 5,24 N 8,09

Gef.: C 58,80 H 5,03 N 7,86

DC : R_f = 0,61 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.15. 3-Ethyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-
hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 c)

36 mg Palladium auf Aktivkohle wurden in einem Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von 6,0 mg (71 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser vorhydriert. Sodann wurde eine Lösung von 21,5 mg (62 μmol) 26 c in 1 ml Essigsäureethylester über ein Septum in den Reaktionskolben eingespritzt und bei 0 °C hydriert. Nach 10 Minuten war die Wasserstoffaufnahme beendet; die Reaktion wurde jedoch noch 10 Minuten fortgesetzt. Der Wasserstoffverbrauch betrug 5,7 ml (berechnet wurden für 0 °C und 760 Torr 5,6 ml = 4 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde mit 2 ml Wasser verdünnt und durch Filtration über Hyflo Super Cel vom Katalysator befreit, der mit 5 ml Essigsäureethylester nachgespült wurde. Die wäßrige Phase wurde mit Essigsäureethylester gut gewaschen und abgetrennt. Im Vakuum wurden Essigsäureethylesterreste entfernt.

30 μl der ursprünglichen 3 ml wäßriger Lösung des Oxapemcarbonsäuresalzes wurden in einer UV-Küvette auf 2520 μl verdünnt. Aus dem Wert für die Extinktion $E = 1,265$ wurde mit $\epsilon = 5800$ die Ausbeute zu 55 μmol (89 %) bestimmt. Die Lyophilisierung der Stammlösung ergab 10,6 mg (64 %) eines blaßgelben Salzes.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : $\delta = 1,11$ (t, $J = 7$ Hz, 3 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$),
1,27 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,42 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,64 (q,
 $J = 7$ Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{CH}_3$), 5,56 (s, 1 H, 5-H).

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 259$ nm ($\epsilon = 5800$)

10.16. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyI)-
3-hydroxy-4-methylpent-2-ensäure-p-nitrobenzylester
(23 d)

In einem mit Septum verschlossenen 100 ml - Schlenkkolben wurden 40 ml trockenes THF unter Stickstoff vorgelegt und auf -78°C abgekühlt. Es wurden 8 ml einer 1 m Lösung (8 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und kurz darauf eine vorbereitete Lösung von 1522 mg (4,0 mmol) 21 in insgesamt 16 ml trockenem THF mit der Spritze hinzugegeben, wobei die charakteristische Dunkelfärbung auftrat. Nach zwölfminütigem Rühren bei -78°C wurden 440 μl (448 mg, 4,2 mmol) 2-Methylpropionsäurechlorid zugesetzt. Während weiterer 30 Minuten bei der gleichen Temperatur hellte sich die Reaktionslösung etwas auf. Nach Entfernen des Kühlbades wurde die Lösung noch 5 Minuten bei Raumtemperatur gerührt, mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt und wie unter 10.13. beschrieben aufgearbeitet. Das erhaltene orange Öl wurde über eine mit 30 g Kieselgel gefüllte Säule gereinigt. Zur Elution der Substanz wurde ein 4 : 1 -

Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester verwendet. Es wurden 32 Fraktionen zu je 5 ml genommen. Aus den Fraktionen 4 mit 22 wurden 1511 mg (84 %) eines fahlgelben Pulvers isoliert.

Für die Analyse wurden 200 mg des Produkts nochmals über 6 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 9 : 1 als Fließmittel chromatographiert und anschließend aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Dabei wurden 96 mg farbloser Nadeln vom Schmelzpunkt 97 - 99 °C erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,14, 1,17, 1,18, 1,22, 1,24 und 1,39 (6 Signale, 21 H, 3'-CH₃, t-Butyl, -CH(CH₃)₂), 2,75 - 3,16 (m, 1 H, -CH(CH₃)₂), 4,57 (s, 1 H, 4'-H), 5,27 und 5,31 (2 s, 2 H, -O-CH₂-Ar), 7,51 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 12,22 und 12,45 (2 d, J = 1,5 Hz, 1 H, Enol-H der E- und Z-Form).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m und 2865 w (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1655 s (Ester - C=O), 1610 s (C=C), 1530 s (NO_2), 1460 w und 1410 m (C-H Def.), 1390 m und 1380 m (Isopropyl-), 1370 m (t-Butyl), 1355 s (NO_2), 1320 m, 1225 s (C-O), 1145 m, 1100 w, 1080 m, 1050 w, 1010 m, 860 m, 845 m, 825 m.

UV (Ethanol) : λ_{max} = 263 nm (ϵ = 19090)

Elementaranalyse : $C_{22}H_{30}N_2O_6S$ (450,55)

Ber.: C 58,65 H 6,71 N 6,22 S 7,12

Gef.: C 58,64 H 6,66 N 5,82 S 6,98

DC : $R_f = 0,56$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.17. 3-Isopropyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-
[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester
(26 d)

Eine Lösung von 451 mg (1,0 mmol) 23 d in 250 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren zusammen mit 679 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 542 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)oxid eineinhalb Stunden unter Rückfluß gekocht. Aufarbeitung und Abtrennung der aufgetretenen farblosen Niederschläge erfolgten wie unter 10.14. beschrieben. Das so erhaltene Rohprodukt, ein gelbes Öl, wurde über 12 g Florisil chromatographisch gereinigt. Als Fließmittelsystem diente Benzol/Essigsäureethylester 7 : 1. Von 20 Fraktionen zu je 4 ml lieferten die Fraktionen 2 - 8 nach Abziehen der Lösungsmittel und achtstündiger Trocknung im Hochvakuum bei Raumtemperatur 230 mg (64 %) einer gelben Festsubstanz.

Umkristallisation aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch ergab 132 mg analysenreiner, gelber Kristalle vom Schmelzpunkt 90,5 - 92 °C. Einengen der Mutterlauge führte zu einer zweiten Fraktion von 48 mg.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,15 (d, J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$),
1,18 (d, J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1,27 (s, 3 H, $6-\text{CH}_3$),
1,46 (s, 3 H, $6-\text{CH}_3$), 3,52 (m, J = 7 Hz, 1 H, $-\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$),
5,01 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,35 (d, J = 14 Hz,
1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,43 (s, 1 H, 5-H), 7,49 (d, J = 8,5 Hz,
2 H, Ar-H), 8,09 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2965 m, 2930 m und 2870 w (aliph. CH),
1800 s (β -Lactam - C=O), 1710 s (Ester - C=O), 1625 s
(C=C), 1525 s (NO_2), 1470 m (C-H Def.), 1390 m und 1380 m
(Isopropyl), 1350 s (NO_2), 1340 s (C-O), 1315 m, 1220 w,
1170 m, 1150 m, 1095 s (C-O), 1045 m, 1010 m, 935 w, 860 m,
850 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : λ_{max} = 275 nm (ϵ = 17500)

MS (70 eV, 80 - 90 °C) : m/e = 360 M^+ , 332 ($-\text{CO}$),
317 ($-\text{C}_3\text{H}_7^+$), 291 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 217,
180 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{OCO}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$),
70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), m^* = 235,2 (360/291).

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ (360,37)

Ber.: C 59,99 H 5,59 N 7,77

Gef.: C 59,94 H 5,32 N 7,78

DC : R_f = 0,63 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.18. 3-Isopropyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-
[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 d)

In einem Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von 4,7 mg (56 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser wurden 30 mg Palladium auf Aktivkohle suspendiert und bei 0 °C vorhydriert. Nach Einspritzen einer Lösung von 18,2 mg (51 μmol) 26 d in 1 ml Essigsäureethylester in das Reaktionsgefäß wurde 20 Minuten lang bei 0 °C hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war bereits nach 10 Minuten beendet. Der Gesamtverbrauch an Wasserstoff betrug 5,3 ml (theoretischer Verbrauch für 0 °C und 760 Torr : 4,6 ml = 4 Äq.). Das mehrphasige Gemisch wurde zur Abtrennung des Katalysators über Hyflo Super Cel filtriert, der Katalysator mit 2 ml Wasser und 5 ml Essigsäureethylester nachgespült. Die wäßrige Phase wurde mit Essigsäureethylester gut gewaschen und abgetrennt. Reste an Essigsäureethylester wurden im Vakuum entfernt. 60 μl der Salzlösung wurden auf 10 ml verdünnt und die Extinktion der verdünnten Lösung zu 0,625 bestimmt. Daraus ließ sich, wie früher beschrieben, eine Ausbeute von 54 μmol (100 %) ermitteln.

Nach Lyophilisierung der Stammlösung wurden 7,4 mg (59 %) farblosen Schaums erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : δ = 1,12 (d, J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1,15 (d, J = 7 Hz, 3 H, $-\text{CH}(\underline{\text{CH}_3})_2$), 1,27 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,43 (s, 3 H, 6- CH_3), 3,52 (m, 1 H, $-\underline{\text{CH}}(\text{CH}_3)_2$), 5,55 (s, 1 H, 5-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 2970 m, 2935 m und 2880 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1635 s (C=C), 1590 s (Carboxylat - C=O), 1470 m und 1445 w (C-H Def.), 1405 s (Carboxylat - C=O), 1370 m (Isopropyl), 1325 m, 1305 m, 1260 m (=C-O-C), 1220 w, 1195 m, 1125 m, 1040 m (=C-O-C), 995 m, 945 w, 865 w, 835 w, 800 m, 755 w.

UV (H_2O) : λ_{max} = 260 nm (ϵ = 5800)

10.19. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester
(33 e)

50 ml trockenes THF wurden in einem mit Septum verschlossenen und unter Stickstoff stehenden 100 ml - Schlenkkolben auf - 78 °C gekühlt. Nacheinander erfolgten die Zugabe von 10 ml einer 1 m Lösung (10 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und einer Lösung von 1903 mg (5,00 mmol) 21 in 15 ml trockenem THF. Die sich sogleich dunkel färbende Reaktionslösung wurde nach 15 Minuten Rühren bei - 78 °C mit 650 μ l (636 mg, 5,27 mmol) Pivaloylchlorid versetzt und weitere 30 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt. Die Farbe der Lösung veränderte sich kaum. Dem Ansatz wurde nach Entfernen des Kühlbades wenig verdünnte Essigsäure zugesetzt. Nach Verdünnen in 500 ml Toluol wurde die organische Lösung mit 250 ml gesättigter

Kochsalzlösung, zweimal 250 ml 2 n Salzsäure und 250 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 100 ml Toluol extrahiert. Trocknen der gesamten organischen Phase mit Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels führten zu einem rotbraunen, öligen Rohprodukt, das über eine mit 73 g Kieselgel beschickte Säule mit Toluol/Essigsäureethylester (4 : 1) als Fließmittel gereinigt wurde. Es wurden 43 Fraktionen zu je 15 ml genommen. Aus den produkthaltigen Fraktionen 5 - 10 ließen sich 1723 mg (79 %) hellgelben, analysenreinen Harzes isolieren.

Es gelang, die Substanz aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch nach zwei Wochen bei - 20 °C auch in kristalliner Form zu erhalten (Schmelzpunkt 87,5 - 90,5 °C).

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,11, 1,13, 1,16, 1,22, 1,25 und 1,28 (6 Signale, 24 H, 3'- CH_3 , - $\text{S-C}(\text{CH}_3)_3$ und - $\text{CO-C}(\text{CH}_3)_3$ beider Diastereomeren), 4,58 (s, ~0,5 H, 4-H, Diastereomeres I), 4,77 (s, ~0,5, 4-H, Diastereomeres II), 5,17 (s, ~0,5 H, 2-H, Diastereomeres I), 5,25 (s, 2 H, - $\text{O-CH}_2\text{-Ar}$), 5,35 (s, ~0,5 H, 2-H, Diastereomeres II), 7,49 (d breit, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,13 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m und 2865 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1715 s (Carbonyl - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 m (C-H Def.), 1390 m und 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1185 s (C-O), 1135 m, 1105 m, 1060 w, 1015 w, 995 m, 930 w, 890 w, 860 w, 850 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : $\lambda_{\max} = 264,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10930$)

Elementaranalyse : $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (464,58)

Ber.: C 59,46 H 6,94 N 6,03 S 6,90

Gef.: C 59,42 H 6,91 N 5,63 S 6,92

DC : $R_f = 0,59$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.20. 3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-
[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester
(26 e)

Eine Lösung von 930 mg (2,00 mmol) 33 e in 460 ml trockenem DME wurde zusammen mit 1046 mg (5,02 mmol) gelbem Quecksilber(II)oxid und 1358 mg (5,00 mmol) Quecksilber(II)-chlorid kräftig gerührt und drei Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde die gelbliche Lösung zur Abtrennung unlöslicher Quecksilbersalze über Hyflo filtriert und auf etwa ein Zehntel des Volumens eingeeengt. Nach Verdünnung mit 500 ml Benzol und Aufbewahrung der Lösung für zwei Tage bei 0 °C wurde von dem entstandenen farblosen Niederschlag abfiltriert und die erhaltene klare Lösung mit 250 ml gesättigter Kochsalzlösung, 250 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung pH 7 und 250 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 100 ml Benzol extrahiert. Trocknung der organischen Phase mit Magnesium-

sulfat, Einengen der Lösung auf 50 ml und Aufbewahrung bei 0 °C, Abfiltrieren von wenig erneut angefallenem Niederschlag und Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum ergaben ein gelbes, leicht getrübbtes Öl. Zur Reinigung und Entfernung letzter Quecksilberbestandteile wurde das Rohprodukt über 25,3 g Florisil mit Benzol/Essigsäureethylester (7 : 1) als Fließmittel chromatographiert. Von 36 Fraktionen zu je 5 ml lieferten die Fraktionen 5 - 11 nach Entfernen des Lösungsmittels und Eindampfen des Rückstandes in Methylenchlorid eine blaßgelbe Festsubstanz, die zwei Stunden im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet wurde. Die Ausbeute betrug 560 mg (75 %).

Nach Umkristallisieren aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch wurden 429 mg hellgelber Kristalle erhalten. Eine zweite Fraktion ergab noch 69 mg.

Schmelzpunkt : 119 - 120,5 °C

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,30 (s, 12 H, 6- CH_3 und t-Butyl), 1,47 (s, 3 H, 6- CH_3), 5,02 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,36 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,40 (s, 1 H, 5-H), 7,53 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,12 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2935 m und 2870 w (aliph. CH), 1797 s (β -Lactam - C=O), 1715 s (Ester - C=O), 1610 m, 1585 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 w (C-H Def.), 1350 s (NO_2), 1315 s (C-O), 1155 m, 1140 m, 1085 s (C-O), 1030 w, 1010 m, 920 w, 850 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : $\lambda_{\max} = 278 \text{ nm}$ ($\epsilon = 14980$)

MS (20 eV, 80 °C) : $m/e = 374 \text{ M}^+$, 346 ($-\text{CO}$), 331 ($-\text{CO}$, $-\text{CH}_3^+$), 305 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 289 ($-\text{CO}$, $-\text{C}_4\text{H}_9^+$), 217, 194 ($-\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{OCO}^+$), 152 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), 57 (C_4H_9^+).

Elementaranalyse : $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ (374,40)

Ber.: C 60,95 H 5,92 N 7,48

Gef.: C 60,54 H 5,79 N 7,23

DC : $R_f = 0,63$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

Von kristallinem 26 e wurde ebenfalls eine Röntgenstrukturanalyse durchgeführt.

Kristalldaten von 26 e :

Präparat : Gelbliche, stark miteinander verwachsene Kristalle. Ein uneinheitlicher Kristall wurde an einen Glasfaden geklebt.

Kristallgröße :

ca. $0,4 \times 0,1 \times 0,1 \text{ mm}$

Kristallsystem : triklin

Raumgruppe : $P \bar{1}$

$a = 8,5206 (32) \text{ \AA}$, $b = 9,5199 (34) \text{ \AA}$,
 $c = 12,9806 (46) \text{ \AA}$

$\alpha = 99,224 (28)^\circ$, $\beta = 90,856 (29)^\circ$,
 $\gamma = 115,009 (27)^\circ$

Volumen : $937,83 (59) \text{ \AA}^3$

Moleküle pro
Elementarzelle : 2

Röntgenographische
Dichte : $1,326 \text{ g/cm}^3$

Messungen am Syntex R 3 - Diffraktometer.

Reflexbreite : $1,6^\circ$

Meßzeiten : $4^\circ - 30^\circ (\text{°/min})$

Meßbedingungen : ω -Scan; Mo-K α -Strahlung; $0,71069 \text{ \AA}$;
Graphitmonochromator; -40°C .

Meßbereich : 2θ ; $4^\circ - 50^\circ$; 5815 Reflexe gemessen;
2409 Reflexe ($I > 2\sigma(I)$)

$R = 0,0501$; $RW = 0,0432$

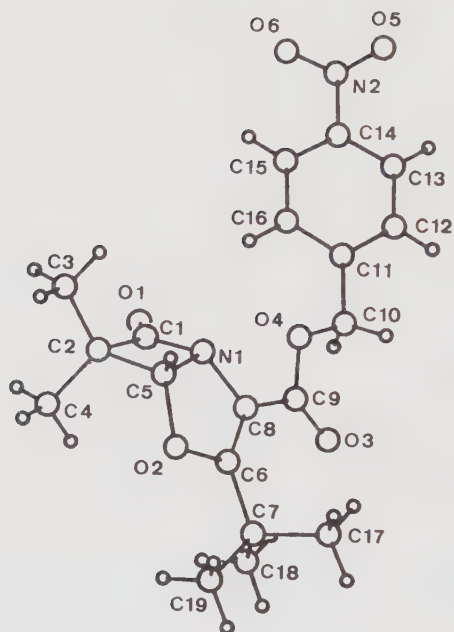


Tabelle 11 : Atomkoordinaten für 26 e

Atom	X/A	Y/B	Z/C
C(1)	0,28051(31)	0,59712(27)	0,07950(18)
O(1)	0,22818(24)	0,45673(18)	0,06161(13)
C(2)	0,35087(32)	0,73073(28)	0,01585(18)
C(3)	0,52895(31)	0,76378(30)	-0,02101(18)
H(3A)	0,60672(31)	0,77458(30)	0,03711(18)
H(3B)	0,57261(31)	0,85963(30)	-0,04865(18)
H(3C)	0,52048(31)	0,67808(30)	-0,07462(18)
C(4)	0,21945(33)	0,71217(30)	-0,07220(18)
H(4A)	0,10905(33)	0,69139(30)	-0,04520(18)
H(4B)	0,20727(33)	0,62577(30)	-0,12635(18)
H(4C)	0,25910(33)	0,80728(30)	-0,10057(18)
C(5)	0,35030(31)	0,83568(27)	0,12103(16)
H(5)	0,45174(31)	0,93432(27)	0,13943(16)
N(1)	0,30123(26)	0,70246(22)	0,17505(14)
O(2)	0,20728(21)	0,88114(18)	0,13017(11)
C(6)	0,10266(29)	0,80253(25)	0,20212(15)
C(7)	-0,03842(31)	0,85415(26)	0,23295(17)
C(8)	0,15436(30)	0,69739(26)	0,23213(16)
C(9)	0,09028(32)	0,59431(26)	0,30901(16)
O(3)	-0,03859(22)	0,57043(19)	0,35544(12)
O(4)	0,19728(19)	0,52554(17)	0,32211(11)
C(10)	0,14990(31)	0,42124(26)	0,39737(17)
H(10A)	0,14763(31)	0,47806(26)	0,46505(17)

Atom	X/A	Y/B	Z/C
H(10B)	0,03742(31)	0,33545(26)	0,37558(17)
C(11)	0,28558(28)	0,35950(24)	0,40261(16)
C(12)	0,32158(29)	0,31994(25)	0,49538(17)
H(12)	0,26549(29)	0,33913(25)	0,55608(17)
C(13)	0,43742(29)	0,25334(24)	0,50209(17)
H(13)	0,46246(29)	0,22611(24)	0,56645(17)
C(14)	0,51644(30)	0,22794(26)	0,41260(17)
C(15)	0,48552(32)	0,26821(28)	0,31973(18)
H(15)	0,54313(32)	0,25023(28)	0,25947(18)
C(16)	0,37036(32)	0,33565(27)	0,31456(18)
H(16)	0,34892(31)	0,36604(27)	0,25069(18)
N(2)	0,63666(28)	0,15400(24)	0,41662(16)
O(5)	0,68747(25)	0,14295(22)	0,50216(14)
O(6)	0,67883(27)	0,10482(25)	0,33320(14)
C(17)	0,00114(31)	0,92968(27)	0,35011(16)
H(17A)	-0,08664(31)	0,96336(27)	0,37179(16)
H(17B)	0,11273(31)	1,01907(27)	0,36075(16)
H(17C)	0,00235(31)	0,85421(27)	0,39070(16)
C(18)	-0,21746(30)	0,71171(26)	0,21267(17)
H(18A)	-0,30590(30)	0,74539(26)	0,23268(17)
H(18B)	-0,21925(30)	0,63506(26)	0,25309(17)
H(18C)	-0,23901(30)	0,66554(26)	0,13950(17)
C(19)	-0,03895(34)	0,97683(28)	0,16864(19)
H(19A)	-0,12859(34)	1,00870(28)	0,18898(19)
H(19B)	-0,06034(34)	0,93098(28)	0,09542(19)
H(19C)	0,07193(34)	1,06709(28)	0,18135(19)

10.21. 3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-
【3.2.0】hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (31 e)

30 mg Palladium auf Aktivkohle und 4,7 mg (56 μmol) Natriumhydrogencarbonat wurden in einem Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und 1 ml Wasser bei 0 °C vorhydriert. Nach Einspritzen einer Lösung von 18,7 mg (50 μmol) 26 e in 1 ml Essigsäureethylester erfolgte die eigentliche Hydrierung, die etwa 10 Minuten erforderte, jedoch erst nach 20 Minuten beendet wurde. Es wurde ein Wasserstoffverbrauch von 4,2 ml gemessen (berechnet waren 4,5 ml = 4 Äq. für 0 °C und 760 Torr). Nach Beendigung der Hydrierung wurde das Reaktionsgemisch mit 2 ml kaltem Wasser und 5 ml kaltem Essigsäureethylester verdünnt und zur Abtrennung des Katalysators über Hyflo Super Cel filtriert. Die wäßrige Lösung wurde gut mit Essigsäureethylester gewaschen und abgetrennt. Essigsäureethylesterreste wurden im Vakuum entfernt. 150 μl der Lösung wurden auf 10 ml verdünnt. Aus der gemessenen Extinktion der verdünnten Lösung $E = 0,916$ ließ sich die Ausbeute zu 32 μmol (63 %) bestimmen.

Die Gefriertrocknung der Lösung lieferte 8,5 mg (68 %) blaßgelber Festsubstanz.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : $\delta = 1,23$ (s, 9 H, t-Butyl), 1,26 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,39 (s, 3 H, 6- CH_3), 5,50 (s, 1 H, 5-H).

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 261 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

10.22. 3-t-Butyl-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo-
[3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-o-nitrobenzyl-
ester (32 e)

66 mg (0,25 mmol) 31 e wurden mit 43 mg (0,20 mmol) o-Nitrobenzylbromid in 0,3 ml DMSO unter Argon 46 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Hierbei wurde ein Unterschuß an Bromid eingesetzt, um unnötige Trennprobleme bei der Isolierung des Produkts zu vermeiden. Nach dem Ende der Reaktion wurde das Gemisch in 40 ml Benzol verdünnt und die organische Lösung mit dreimal 40 ml Wasser gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit insgesamt 30 ml Benzol extrahiert. Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum, zweimaliges Eindampfen des Rückstandes in Ether und mehrstündige Trocknung im Hochvakuum ergaben 70 mg einer hellgelben harzigen Substanz. Der Anteil an 32 e im Rohprodukt ergab sich aus dem ^1H -NMR-Spektrum zu ca. 60 - 70 %. Die Reinigung erfolgte chromatographisch über 2,1 g Florisil mit einem Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch 96 : 4. Jedoch wurde nur ein geringer Trenneffekt erzielt. Wie sich zeigte, besaß das Nebenprodukt in verschiedenen Toluol/Essigsäureethylester-Gemischen den gleichen R_F -Wert wie das Oxapenem. Erst durch eine chromatographische Reinigung über 1 g Kieselgel mit einem aus 9 Teilen Hexan und 1 Teil Essigsäureethylester bestehenden Fließmittelgemisch konnte eine Auftrennung erreicht werden. Nach Vereinigung der reinsten Fraktionen,

Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum, Eindampfen des Rückstandes in Ether und Trocknung im Hochvakuum für zehn Stunden bei Raumtemperatur und fünf Stunden bei 50 - 60 °C wurden noch 10 mg (13 %) eines farblosen, analysenreinen Harzes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,31 (s, 12 H, t-Butyl und 6- CH_3), 1,49 (s, 3 H, 6- CH_3), 5,32 (d, J = 16 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,86 (d, J = 16 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,45 (s, 1 H, 5-H), 7,20 - 8,18 (m, 4 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2945 m (aliph. CH), 1796 s (β -Lactam - C=O), 1710 s (Ester - C=O), 1580 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1345 s (NO_2).

UV (Dioxan) : λ_{max} = 273 nm (ϵ = 10270), Bande strukturiert.

MS (20 eV, 110 °C) : m/e = 376 ($\text{M}^+ + \text{H}_2$), 374 M^+ , 346 ($-\text{CO}$), 317 ($-\text{C}_4\text{H}_9^+$), 305 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 289 ($-\text{CO}$, $-\text{C}_4\text{H}_9^+$), 258, 194 ($-\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{OCO}^+$), 152 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 85 ($\text{C}_4\text{H}_9\text{CO}^+$), 70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), 57 (C_4H_9^+).

Elementaranalyse : $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6$ (374,40)

Ber.: C 60,95 H 5,92 N 7,48

Gef.: C 61,02 H 5,95 N 7,09

DC : R_f = 0,59 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.23. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
3-hydroxy-5,5-dimethylhex-2-ensäure-p-nitrobenzyl-
ester (23 f)

40 ml trockenes THF wurden in einem unter Stickstoff stehenden 100 ml - Schlenkkolben mit Septumverschluß auf - 78 °C abgekühlt. Es wurden 8 ml einer 1 m Lösung (8 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und nach einigen Minuten eine Lösung von 1522 mg (4,0 mmol) 21 in insgesamt 16 ml trockenem THF mit der Spritze hinzugegeben. Nach 12minütigem Rühren bei - 78 °C wurden zu der schwarzgefärbten Reaktionslösung 583 µl (565 mg, 4,2 mmol) 3,3-Dimethylbuttersäurechlorid hinzugefügt. Anschließend wurde die Lösung noch weitere 30 Minuten bei - 78 °C gerührt. Nach Entfernung des Kühlbades wurde die Lösung 5 Minuten bei Raumtemperatur belassen und dann mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt. Die Aufarbeitung folgte ganz der in 10.13. beschriebenen Weise. Das orange, ölige Rohprodukt wurde zur Reinigung auf eine Säule mit 40 g Kieselgel gegeben und mit Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1 eluiert. Von 30 Fraktionen zu je 7 ml ergaben die Fraktionen 4 - 14 zusammen 1508 mg (79 %) eines gelben Festkörpers.

100 mg des Produkts wurden nochmals über 3 g Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 5 : 1 als Fließmittel-

gemisch chromatographiert und aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Es wurden 39 mg farbloser, analysenreiner Kristalle vom Schmelzpunkt 93 - 95 °C erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,04, 1,14, 1,16, 1,24 und 1,39 (5 Signale, 24 H, 3'- CH_3 , $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ und $-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ von Z- und E-Enol), 2,10 und 2,39 (2 d, J = 14 Hz, $\sim 0,6$ H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, Z-Enol), 2,17 und 2,70 (2 d, J = 14 Hz, $\sim 1,4$ H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$, E-Enol), 4,53 (s, $\sim 0,7$ H, 4'-H, E-Enol), 4,58 (s, $\sim 0,3$ H, 4'-H, Z-Enol), 5,26 (s, $\sim 0,3$ H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$, Z-Enol), 5,30 (s, $\sim 0,7$ H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$, E-Enol), 7,50 und 8,19 (2 d, J = 8,5 Hz, $\sim 2,8$ H, Ar-H, E-Enol), 7,54 und 8,16 (2 d, J = 8,5 Hz, $\sim 1,2$ H, Ar-H, Z-Enol), 12,31 (s, $\sim 0,7$ H, Enol-H, E-Enol), 12,43 (s, $\sim 0,3$ H, Enol-H, Z-Enol).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m und 2865 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1655 s (Ester - C=O), 1605 s (C=C), 1530 s (NO_2), 1450 w und 1400 m (C-H Def.), 1385 m, 1375 m und 1365 m (CH_3 -Def. und t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1225 s (C-O), 1155 m, 1140 m, 1095 m, 1055 m, 1020 m, 1015 m, 885 w, 850 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 266 nm (ϵ = 21330)

Elementaranalyse : $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (478,61)

Ber.: C 60,23 H 7,16 N 5,85 S 6,70

Gef.: C 60,38 H 7,08 N 5,91 S 6,71

DC : R_f = 0,63 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.24. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-
1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-
p-nitrobenzylester (26 f)

Eine Lösung von 479 mg (1,0 mmol) 23 f in 250 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren mit 679 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 542 mg (2,5 mmol) Quecksilber(II)oxid eineinhalb Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde der Ansatz analog zu 10.14. aufgearbeitet. Die während der Aufarbeitung auftretenden Niederschläge von Quecksilbersalzen wurden in entsprechender Weise abgetrennt. Das Rohprodukt, ein gelbes Öl, wurde über 10 g Florisil chromatographisch gereinigt, wobei ein Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch 7 : 1 als Fließmittel verwendet wurde. Es wurden 24 Fraktionen zu je 3 ml genommen. Die Fraktionen 1 mit 13 lieferten 309 mg (80 %) eines nahezu farblosen, analysenreinen Harzes. Versuche, das Oxapenem in kristalliner Form zu erhalten, blieben erfolglos.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,00 (s, 9 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 1,32 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,49 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,62 (s, 2 H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 5,07 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,40 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,51 (s, 1 H, 5-H), 7,56 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,15 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2950 m und 2865 w (aliph. CH), 1801 s (β -Lactam - C=O), 1710 s (Ester - C=O), 1620 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1465 w (C-H Def.), 1380 m und 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1335 s (C-O), 1320 m, 1175 m, 1135 s, 1110 m, 1080 s (C-O), 1040 w, 1010 m, 955 w, 930 w, 880 w, 855 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : $\lambda_{\text{max}} = 274,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 15780$)

MS (70 eV, 140 °C) : $m/e = 388 \text{ M}^+$, 360 (-CO), 345 (-CO, $-\text{CH}_3^+$), 319 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $+\text{H}^+$), 217, 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$), 57 (C_4H_9^+), $m^* = 262$ (388/319).

Elementaranalyse : $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_6$ (388,42)

Ber.: C 61,85 H 6,23 N 7,21

Gef.: C 61,96 H 6,44 N 7,08

DC : $R_f = 0,66$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.25. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-
1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure,
Na-Salz (31 f)

In einem Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von 4,7 mg (56 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser wurden 30 mg Palladium auf Aktivkohle bei 0 °C vor-

hydriert. Nach Einspritzen einer Lösung von 19,5 mg (50 μmol) 26 f in 1 ml Essigsäureethylester in den mit Septum verschlossenen Reaktionskolben wurde 20 Minuten bei 0 °C hydriert. Die Wasserstoffaufnahme war nach 10 Minuten beendet; der Verbrauch betrug 4,7 ml (theoretischer Verbrauch : 4,6 ml = 4 Äq. für 0 °C und 760 Torr). Das Reaktionsgemisch wurde mit 2 ml Wasser verdünnt und der Katalysator über Hyflo Super Cel abfiltriert. Nach Spülen des Katalysators mit 5 ml Essigsäureethylester wurde die wäßrige Lösung mit Essigsäureethylester gewaschen und abgetrennt. Essigsäureethylesterreste wurden im Vakuum entfernt. 30 μl der Stammlösung wurden in einer UV-Küvette auf 2530 μl verdünnt. Mit der gemessenen Extinktion $E = 0,956$ ergab sich eine Ausbeute von 42 μmol (83 %).

Die Lyophilisierung der wäßrigen Lösung bei 10^{-3} Torr lieferte 7,4 mg (54 %) eines völlig farblosen, schaumigen Salzes.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : $\delta = 0,97$ (s, 9 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,30 (s, 3 H, 6- CH_3), 1,44 (s, 3 H, 6- CH_3), 2,59 (s, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 5,60 (s, 1 H, 5-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 2960 m, 2905 w und 2870 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1635 s (C=C), 1590 s (Carboxylat - C=O), 1470 w (C-H Def.), 1405 s (Carboxylat - C=O), 1365 m (t-Butyl), 1330 w, 1305 w, 1260 m (=C-O-C), 1195 m, 1175 m, 1095 m (=C-O-C), 1060 w, 1020 w, 995 m, 960 w, 855 w, 840 w, 800 m, 755 w.

UV (H_2O) : $\lambda_{max} = 262,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

10.26. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
5-chlor-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzyl-
ester (33 g)

20 ml trockenes THF wurden in einem mit Septum versehenen 50 ml - Schlenkkolben vorgelegt und unter Stickstoff auf $-78^\circ C$ gekühlt. Es wurden nacheinander 4,0 ml einer 1 m Lösung (4,0 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und eine Lösung von 761 mg (2,00 mmol) 21 in insgesamt 7 ml trockenem THF mit der Spritze hinzugegeben. Zu der sich sofort schwarz färbenden Lösung wurden nach 12minütigem Rühren bei $-78^\circ C$ 275 μl (330 mg, 2,13 mmol) β -Chlor-pivalinsäurechlorid innerhalb von fünf Minuten hinzuge-
tropft, wobei sich die Farbe der Lösung kaum veränderte. Nach 36 Minuten bei $-78^\circ C$ wurde das Kühlbad entfernt, der Ansatz noch fünf Minuten bei Raumtemperatur belassen und dann mit verdünnter Essigsäure versetzt. Der Kolbeninhalt wurde in 200 ml Toluol aufgenommen und mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung, 100 ml 2 n Salzsäure und nochmals 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Beim ersten Ausschütteln mit Kochsalzlösung erfolgte eine gute Phasentrennung erst nach Aussalzen mit festem Kochsalz. Die wäßrige Phase wurde noch mit 100 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknung der vereinigten organischen Lösungen mit Magne-

siumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde ein orangerotes Öl erhalten, das über 34 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1 als Fließmittelgemisch chromatographiert wurde. Bei einer Entnahme von 36 Fraktionen zu je 5 ml erhielt man aus den Fraktionen 7 - 16 insgesamt 795 mg (80 %) eines intensiv gelben, analysenreinen Harzes.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,04, 1,27 und 1,34 (3 Signale, 21 H, 3'- CH_3 , t-Butyl und $-\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2\text{CH}_2\text{Cl}$ beider Diastereomeren), 3,69 (s, 2 H, $-\text{CH}_2\text{Cl}$), 4,61 (s, $\sim 0,5$ H, 4'-H), 4,80 (s, $\sim 0,5$ H, 4'-H), 5,24 (s, $\sim 0,5$ H, 2-H), 5,30 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,34 (s, $\sim 0,5$ H, 2-H), 7,54 (d breit, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,17 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3040 w (CH_2 -Halogen), 2965 m, 2895 w und 2860 w (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1720 s (Carbonyl - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 m (C-H Def.), 1390 m und 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1190 s (C-O), 1135 m, 1105 m, 990 m, 890 m, 860 w, 845 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 264 nm (ϵ = 12350)

Elementaranalyse : $C_{23}H_{31}N_2O_6SCl$ (499,03)

Ber.: C 55,36 H 6,26 N 5,61 S 6,42

Gef.: C 55,38 H 6,11 N 6,00 S 6,43

DC : $R_f = 0,62$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.27. 3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (26 g)

Eine Lösung von 250 mg (0,50 mmol) 33 g in 125 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren zusammen mit 340 mg (1,25 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 271 mg (1,25 mmol) gelbem Quecksilber(II)oxid zwei Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde die überstehende Lösung vom unlöslichen Bodensatz abpipettiert, zehn Minuten bei 3000 Upm zentrifugiert, auf etwa 5 ml eingeeengt, wobei ein farbloser Niederschlag auftrat, und mit 100 ml Benzol verdünnt. Die benzolische Lösung wurde mit 50 ml gesättigter Kochsalzlösung, 50 ml 0,5 m Phosphatpuffer pH 7 und weiteren 50 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 50 ml Benzol extrahiert. Nach Trocknung der vereinigten organischen Lösungen mit Magnesiumsulfat und Einengen im Vakuum wurde ein erneuter farbloser Niederschlag abfiltriert. Abziehen des Lösungsmittels sowie Aufnehmen und Eindampfen des Rückstandes in Ether

lieferten eine leicht getrübe, zähflüssige Substanz, die nach kurzer Trocknung im Hochvakuum über 6,8 g Florisil mit einem 7 : 1 - Gemisch aus Benzol und Essigsäureethylester als Fließmittel chromatographiert wurde. Von 20 Fraktionen zu je 1,5 ml lieferten die Fraktionen 3 - 9 nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in Ether (geringe Mengen farbloser Nadeln wurden abfiltriert), mehrmaligem Eindampfen in Ether und zehnstündiger Trocknung im Hochvakuum bei 50 °C 177 mg (86 %) farbloser Festsubstanz.

Umkristallisieren aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch ergab 92 mg spektroskopisch reiner Substanz in Form sehr feiner, verfilzter Nadeln. Eine zweite Fraktion lieferte noch 62 mg blaßgelber Substanz.

Um das Oxapenem schmelzpunkts- bzw. analysenrein zu erhalten, wurden 100 mg nochmals über 3 g Florisil mit Benzol/Essigsäureethylester 97 : 3 als Fließmittel chromatographiert und aus Methylenchlorid/Hexan umkristallisiert. Man erhielt 34 mg vom Schmelzpunkt 95 - 97 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,34, 1,38, 1,40 und 1,48 (4 s, 12 H, 6- CH_3 und $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,66 (d, J = 10 Hz, 1 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,91 (d, J = 10 Hz, 1 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 5,06 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,41 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,48 (s, 1 H, 5-H), 7,55 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,16 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2930 m und 2875 w (aliph. CH),
1803 s (β -Lactam - C=O), 1710 s (Ester - C=O), 1590 s
(C=C), 1525 s (NO_2), 1460 w, 1370 m (CH_3 -Def.), 1350 s
(NO_2), 1315 s (C-O), 1255 m, 1160 s, 1130 m, 1115 m, 1090 s
(C-O), 1010 s, 990 m, 920 m, 890 w, 850 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : $\lambda_{\text{max}} = 279 \text{ nm}$ ($\epsilon = 14410$)

MS (70 eV, 110 °C) : m/e = 408 M^+ , 380 (-CO), 339 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$,
+ H^+), 303 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, -Cl $^+$), 289 (-CO, $-\text{C}_4\text{H}_8\text{Cl}^+$), 217,
186 ($-\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$, $-\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$),
70 ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}^+$).

Elementaranalyse : $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl}$ (408,84)

Ber.: C 55,82 H 5,18 N 6,85 Cl 8,67

Gef.: C 55,96 H 5,26 N 6,84 Cl 8,81

DC : $R_f = 0,65$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

10.28. 3-(2-Chlor-1,1-dimethylethyl)-6,6-dimethyl-7-oxo-
4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure,
Na-Salz (31 g)

30 mg Palladium auf Aktivkohle wurden bei 0 °C in einem
Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von
4,7 mg (56 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser

suspendiert und vorhydriert. Über ein Septum wurde danach eine Lösung von 20,6 mg (50 μ mol) 26 g in 1 ml Essigsäure-ethylester in das Reaktionsgefäß eingespritzt. Die folgende Hydrierung nahm 20 Minuten in Anspruch. Bereits nach 10 Minuten war die Wasserstoffaufnahme bei einem Verbrauch von 4,8 ml (berechnet : 4,5 ml = 4 Äq.) beendet. Die Abtrennung des Katalysators erfolgte durch Filtration über Hyflo Super Cel unter Nachspülen mit 2 ml Wasser und 5 ml Essigsäure-ethylester. Die wäßrige Phase wurde mit Essigsäureethylester gewaschen. Noch enthaltene Essigsäureethylesterreste wurden im Vakuum entfernt.

Gefriertrocknung der wäßrigen Lösung bei 10^{-3} Torr ergab 8,9 mg (60 %) einer farblosen Festsubstanz.

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O) : δ = 1,27, 1,30, 1,33 und 1,39 (4 s, 12 H, 6- CH_3 und $-\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_2\text{CH}_2\text{Cl}$), 3,74 (d, J = 10 Hz, 1 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{CH}_2}\text{Cl}$), 4,05 (d, J = 10 Hz, 1 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\underline{\text{CH}_2}\text{Cl}$), 5,52 (s, 1 H, 5-H).

IR in KBr (cm^{-1}) : 2975 m, 2935 m und 2875 w (aliph. CH), 1780 s (β -Lactam - C=O), 1610 s (breit, C=C und Carboxylat - C=O), 1465 w und 1445 w ($-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$), 1390 s (Carboxylat - C=O), 1310 m, 1255 m (=C-O-C), 1195 m, 1175 m, 1140 m, 1120 m, 1090 m (=C-O-C), 1030 w, 1000 m, 935 w, 860 w, 845 w, 795 m (C-Hal), 750 w.

UV (H_2O) : λ_{max} = 265 nm (ϵ = 5800)

11. Synthesen 3-substituierter 6-Methyl-7-oxo-4-oxa-
1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitro-
benzylester und -salze

11.1. Essigsäure-1-propenylester^{31,53} (38 a,b)

58,37 g (1 mol) Propionaldehyd, 142 ml (153,6 g, 1,5 mol) Essigsäureanhydrid und 50 g (0,6 mol) wasserfreies Natriumacetat wurden in einem mit Intensivkühler versehenen 500 ml - Birnenkolben unter Magnetrührung bei einer Badtemperatur von 120 °C unter Rückfluß gekocht. Zwischendurch mußte die Reaktion unterbrochen werden, um verklumptes Natriumacetat zu zerkleinern, da das Fortschreiten der Reaktion ansonsten infolge ungenügender Durchmischung behindert wurde. Der Verlauf der Reaktion wurde anhand von ¹H-NMR-Spektren von Flüssigkeitsproben, die dem Ansatz in bestimmten Zeitabständen entnommen wurden, kontrolliert. Die Reaktion wurde nach insgesamt 95 Stunden abgebrochen, als das ¹H-NMR keine Signale des eingesetzten Propionaldehyds mehr zeigte. Nach dem Erkalten wurde soviel Wasser zugesetzt, daß das Salz weitgehend gelöst wurde. Der orange-farbene Kolbeninhalt wurde vorsichtig in eine Lösung von 300 g Kaliumhydrogencarbonat in einem Liter Wasser eingegossen und zwei Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die organische Phase wurde abgetrennt und einen Tag über CaCl₂ getrocknet. Nach Abpipettieren vom Trockenmittel wurde das

Rohprodukt bei 80 Torr und Badtemperaturen von 80 - 120 °C über eine Vigreuxkolonne fraktioniert destilliert. Die Siedefraktion von 47 - 50 °C, die in einer mit flüssigem Stickstoff gekühlten Vorlage aufgefangen wurde, lieferte 29,79 g (30 %) an reinem, farblosem Propenylacetat als einem Gemisch der cis- und trans-Isomeren im Verhältnis von etwa 1 : 1 (Literaturausbeute nach dieser Methode : 12 %).

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,61 (trans, dd, J = 6,7 Hz, J = 1,7 Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}_3}\text{-CH=CH-}$), 1,63 (cis, dd, J = 6,7 Hz, J = 2,0 Hz, 3 H, $\underline{\text{CH}_3}\text{-CH=CH-}$), 2,01 (cis, s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-CO-}$), 2,07 (trans, s, 3 H, $\text{CH}_3\text{-CO-}$), 4,78 (cis, quintett, J = 6,7 Hz, J = 6,7 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{-}\underline{\text{CH}}\text{=CH-}$), 5,27 (trans, dq, J = 6,7 Hz, J = 12,5 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{-}\underline{\text{CH}}\text{=CH-}$), 6,93 (cis, dq, J = 6,7 Hz, J = 2,0 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{-CH=}\underline{\text{CH-}}$), 6,96 (trans, dq, J = 12,5 Hz, J = 1,7 Hz, 1 H, $\text{CH}_3\text{-CH=}\underline{\text{CH-}}$).

Elementaranalyse : $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$ (100,12)

Ber.: C 59,98 H 8,05

Gef.: C 59,52 H 8,00.

11.2. cis/trans-4-Acetoxy-3-methylazetidin-2-on³³ (40 a,b)

Eine Lösung von 100,01 g (1,00 mol) Essigsäure-1-propenylester in 50 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem mit kühlbarem Tropftrichter, Thermometer und Stickstoff-

ballon versehenen 500 ml - Dreihalskolben vorgelegt und im Methanol/Trockeneis-Bad auf -20°C gekühlt. Über den auf -40 bis -30°C vorgekühlten Tropftrichter mit Trockenrohr wurden innerhalb von 45 Minuten 43,5 ml (70,7 g, 0,5 mol) Chlorsulfonylisocyanat zu der unter Schutzgas gehaltenen Lösung so zugetropft, daß deren Temperatur nicht über -13°C anstieg. Nach vierstündigem Rühren bei Temperaturen zwischen -13 und -5°C (ein IR-Spektrum zeigte eine etwa 40%ige Umsetzung an) wurde die nun gelbe Lösung über Nacht im Gefrierfach aufbewahrt. Die Umsetzung war nach 17,5 Stunden bei etwa -20°C vollständig. Nun wurde die Lösung auf -30°C gekühlt und wiederum über einen auf -40 bis -30°C vorgekühlten Tropftrichter langsam zu einer Suspension von 130 g Natriumhydrogencarbonat und 6,0 g Natriumsulfit in 500 ml Wasser gegeben. Diese Suspension war zuvor in einem Methanol/Trockeneis-Bad auf etwa -20°C abgekühlt worden, so daß ein Teil an der Gefäßwand ausfror. Im Verlaufe des Zutropfens wurde die gefrorene Salzlösung allmählich aufgetaut. Die Zugabe des Chlorsulfonylazetidinons 39 a,b erfolgte so, daß die Temperatur des Gemisches nicht über -3°C stieg. Die 0°C -Grenze durfte auch während der Hydrolysereaktion keinesfalls überschritten werden. Nach Beendigung des Zutropfens wurde noch zweieinhalb Stunden bei -7 bis -3°C kräftig gerührt. Dann wurde mit 200 ml Methylenchlorid und 150 ml Wasser verdünnt und noch eine Stunde weiter gerührt. Nach Abtrennung der orangen organischen Phase, dreimaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit

jeweils 300 ml Essigsäureethylester, Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde ein tieforange gefärbtes, weitgehend kristallines Rohprodukt erhalten. Die Reinigung der Substanz erfolgte säulenchromatographisch mit 1200 g Kieselgel und unter Verwendung eines Toluol/Essigsäureethylester-Gemisches (4 : 1) als Fließmittel. Es wurden 22 Fraktionen zu je 300 ml und 23 Fraktionen zu je 600 ml genommen. Aus den Fraktionen 21 - 38 wurden 31,99 g spektroskopisch reiner und analysenreiner farbloser Festsubstanz gewonnen. Es lag ein Gemisch der cis- und trans-Isomeren im Verhältnis 4 : 1 vor. Die Fraktionen 39 - 45 lieferten noch 1,67 g weitgehend reiner, hauptsächlich das cis-Isomere enthaltender Festsubstanz. Die Gesamtausbeute betrug mithin 33,66 g (47 %) und lag damit noch erheblich über den entsprechenden Literatúrausbeuten von 33 %. Das Verhältnis zwischen cis- und trans-Isomerem ergab sich für die Gesamtausbeute zu etwa 4,3 : 1.

Elementaranalyse : $C_6H_9NO_3$ (143,14)

Ber.: C 50,35 H 6,34 N 9,79

Gef.: C 50,04 H 6,34 N 9,43

Um die spektroskopischen Daten der reinen Isomeren zu erhalten, wurden diejenigen aus einem zweiten Ansatz nach der Chromatographie gewonnenen Fraktionen, in denen jeweils cis- oder trans-Isomeres stark angereichert waren, nochmals

separat gereinigt. Das fast reine, feste cis-Isomere wurde aus Methylenchlorid/Hexan umkristallisiert. Fraktionen mit stark angereicherter flüssiger trans-Komponente wurden zur Abtrennung von cis-Anteilen nochmals über Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 9 : 1 chromatographiert.

trans-4-Acetoxy-3-methylazetidin-2-on :

Gelbliche Flüssigkeit.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,34 (d; J = 7,5 Hz, 3 H, 3- CH_3),
2,05 (s, 3 H, -O-CO- CH_3), 3,09 (q, J = 7,5 Hz, 1 H, 3-H),
5,37 (s, 1 H, 4-H), 6,98 (s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3405 m (NH), 2960 w (aliph. CH),
1785 s (β -Lactam - C=O), 1740 s (Ester - C=O), 1600 w,
1375 w (CH_3 -Def.), 1360 m (Acetoxy- CH_3), 1230 s (C-O),
1155 m, 1035 s (C-O), 975 m, 890 w.

DC : R_f = 0,28 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

cis-4-Acetoxy-3-methylazetidin-2-on :

Farblose Kristalle vom Schmelzpunkt 71,5 - 73,5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,22 (d, J = 7,5 Hz, 3 H, 3-CH_3),
2,07 (s, 3 H, $-\text{O-CO-CH}_3$), 3,35 (ddq, J = 7,5 Hz, J = 4,5 Hz,
 J = 2 Hz, 1 H, 3-H), 5,79 (d, J = 4,5 Hz, 1 H, 4-H),
7,21 (s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3410 m (NH), 2970 w (aliph. CH),
1790 s (β -Lactam - C=O), 1740 s (Ester - C=O), 1605 w,
1375 w (CH_3 -Def.), 1355 m (Acetoxy- CH_3), 1230 s (C-O),
1080 m, 1015 s (C-O), 975 m, 885 w.

DC : R_f = 0,24 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.3. cis/trans-4-t-Butylthio-3-methylazetidin-2-on (41 a,b)

Zu einer auf 1 °C gekühlten Lösung von 10,737 g
(75,0 mmol) 40 a,b (cis : trans ~ 2,7 : 1) in 75 ml trockene-
nem THF wurden 9,7 ml (7,76 g, 86,0 mmol) t-Butylmercaptan
gegeben. Nach Abkühlung auf - 5 °C im Eis/Kochsalz-Bad wur-
den zu der unter Stickstoff gehaltenen Lösung 12,9 ml
(13,13 g, 86,3 mmol) DBU innerhalb von 30 Minuten langsam
zugetropft, so daß deren Temperatur nicht über - 2 °C stieg.
Im Tropftrichter befindliche DBU-Reste wurden mit etwas THF
nachgespült. Der Ansatz wurde sechs Stunden bei - 8 bis
0 °C und schließlich noch zwei Stunden bei Raumtemperatur
gerührt. Dann wurde die gelbe Lösung mit 500 ml Methylen-
chlorid verdünnt. Nach Ausschütteln mit zweimal 200 ml 2 n

Salzsäure und zweimal 200 ml gesättigter Kochsalzlösung, nochmaliger Extraktion der wäßrigen Phase mit 100 ml Methylenchlorid, Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Abfiltrieren des Trockenmittels wurde von dem so erhaltenen Filtrat das Lösungsmittel bei Normaldruck und Badtemperaturen bis 100 °C abdestilliert. Die zurückbleibende Substanz wurde nochmals in Methylenchlorid aufgenommen und das Lösungsmittel wie vorher abdestilliert. Der intensiv gelb gefärbte Rückstand wurde im Kühlschrank fest. Nach mehrmaligem Aufnehmen und Eindampfen des Produkts in Methylenchlorid und Ether und siebenständiger Trocknung im Hochvakuum bei Raumtemperatur wurde eine blaßgelbe Festsubstanz erhalten. Das Rohprodukt setzte sich aus einem Gemisch der beiden Isomeren 41 a (trans) und 41 b (cis) im Verhältnis 9 : 1 zusammen. Zur Reinigung wurde die Substanz auf eine mit 345 g Kieselgel gefüllte Säule gegeben und mit einem 4 : 1 - Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester eluiert. Es wurden 23 Fraktionen zu je 300 ml genommen. 9,179 g (71 %) nahezu farblosen festen Produkts ließen sich aus den Fraktionen 5 - 23 gewinnen.

Elementaranalyse : $C_8H_{15}NOS$ (173,28)

Ber.: C 55,45 H 8,73 N 8,08 S 18,50

Gef.: C 55,90 H 8,58 N 7,72 S 18,21

Zur Bestimmung der physikalischen und spektroskopischen

Daten erfolgte eine Trennung der Isomeren. Durch mehrfache Chromatographie über Kieselgel mit einem Fließmittelgemisch aus vier Teilen Toluol und einem Teil Essigsäureethylester konnte 41 a abgetrennt und ein an 41 b stark angereichertes Material gewonnen werden.

Reines trans-Isomeres ließ sich nach Umkristallisieren aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch in Form farbloser Kristalle vom Schmelzpunkt 98,5 - 100 °C erhalten.

Überwiegend 41 b enthaltende Substanz wurde nochmals über Kieselgel mit einem 15 : 1 - Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester als Fließmittel chromatographiert. Nach Umkristallisieren des aus den reinen Fraktionen isolierten Materials aus Methylenchlorid/Hexan erhielt man das cis-Isomere als farblose, in Büscheln kristallisierende, schmale Nadeln vom Schmelzpunkt 98,5 - 100,5 °C.

trans-4-t-Butylthio-3-methylazetidin-2-on (41 a) :

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,35 (d, J = 7,5 Hz, 3 H, 3- CH_3), 1,36 (s, 9 H, t-Butyl), 2,75 - 3,12 (m, 1 H, 3-H), 4,41 (d, J = 2,5 Hz, 1 H, 4-H), 7,99 (s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3405 m (NH), 2930 m (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1460 m (C-H Def.), 1375 m und 1365 m (t-Butyl), 1340 m, 1230 w, 1160 s, 1065 m, 940 s, 835 w.

DC : R_f = 0,31 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

cis-4-t-Butylthio-3-methylazetidin-2-on (41 b) :

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,23 (d, J = 7,5 Hz, 3 H, 3- CH_3),
1,37 (s, 9 H, t-Butyl), 3,27 - 3,68 (m, 1 H, 3-H),
4,88 (d, J = 5,5 Hz, 1 H, 4-H), 7,83 (s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3395 m (NH), 2925 m (aliph. CH),
1765 s (β -Lactam - C=O), 1455 m (C-H Def.), 1375 m und
1365 m (t-Butyl), 1335 w, 1180 m, 1155 s, 945 s, 875 w,
830 w.

DC : R_f = 0,22 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.4. cis-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
essigsäure-p-nitrobenzylester (42 b)

Eine hellgelbe Lösung von 347 mg (2,00 mmol) 41 b und
989 mg (3,60 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in
8 ml trockenem THF wurde im Eis/Kochsalz-Bad auf $-2,5^\circ\text{C}$
gekühlt und mit Stickstoff überspült. Im Stickstoffstrom
wurden 326 mg (2,90 mmol) Kalium-t-butylat innerhalb von
10 Minuten portionsweise so hinzugegeben, daß die Tempera-
tur nicht über 0°C stieg. Der Ansatz wurde drei Stunden
bei -2 bis 0°C und nach Entfernen des Kühlbades noch eine
Stunde unter Schutzgas gerührt. Die nach Zusatz des Kalium-
t-butylats zunächst auftretende tiefrote Farbe ging in eine

rotbraune Tönung über. Der Inhalt des Reaktionsgefäßes wurde in 200 ml Toluol aufgenommen. Beim Ausschütteln der organischen Phase mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung bildete sich zum Teil ein Schaum, der zunächst mit der wäßrigen Phase abgetrennt wurde. Die gelbe organische Lösung wurde mit 100 ml 2 n Salzsäure und 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die schaumige erste wäßrige Phase wurde separat mit zweimal 100 ml Toluol und 100 ml Essigsäureethylester extrahiert, was zum Verschwinden des Schaums führte. Nach Trocknung der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer wurde der Rückstand in Methylenchlorid aufgenommen und die Lösung eingedampft. Zur Abtrennung des im Überschuß eingesetzten Bromessigsäure-p-nitrobenzyles-
ters und des während der Reaktion entstandenen p-Nitrobenzylalkohols wurde das Rohmaterial auf eine Säule mit 36,0 g Kieselgel gegeben und mit einem Toluol/Essigsäureethylester-Gemisch (4 : 1) eluiert. Die produkthaltigen Fraktionen lieferten ein Gemisch aus 42 b und etwas p-Nitrobenzylalkohol. Aufgrund der nur unvollständigen Trennung wurde eine zweite Chromatographie mit einem unpolaren Fließmittel erforderlich. Bei nochmaliger Chromatographie über 11 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester 20 : 1 wurden 46 Fraktionen zu je 10 ml genommen, von denen die Fraktionen 17 - 42 166 mg (23 %) eines ¹H-NMR-spektroskopisch reinen, blaßgelben Festkörpers ergaben. Zur Entfernung geringer, nur noch im Dünnschichtchromatogramm erkennbarer Ver-

unreinigungen wurde die Substanz aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Nach Abtrennung einiger zunächst ausölender Bestandteile wurden 71 mg farblosen, kristallinen Produkts erhalten. Die analysenreine Verbindung zeigte einen Schmelzpunkt von 83,5 - 85,5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,26 (d, J = 7 Hz, 3 H, 3'- CH_3), 1,29 (s, 9 H, t-Butyl), 3,60 (dq, J = 7 Hz, J = 5 Hz, 1 H, 3'-H), 3,79 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,30 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 5,06 (d, J = 3,5 Hz, 1 H, 4'-H), 5,25 (s, 2 H, -O- CH_2 -Ar), 7,49 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,21 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m (aliph. CH), 1755 s (β -Lactam - C=O und Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1450 w, 1395 m, 1375 m und 1365 m (CH_3 -Def. und t-Butyl), 1345 s (NO_2), 1190 s (C-O), 1090 m, 1010 w, 970 w, 930 m, 855 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 263 nm (ϵ = 10110)

Elementaranalyse : $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (366,44)

Ber.: C 55,72 H 6,05 N 8,75 S 7,64

Gef.: C 55,92 H 5,88 N 8,78 S 7,46

DC : R_f = 0,35 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.5. trans-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidinyI)-
essigsäure-p-nitrobenzylester (42 a)

A) In einem mit Thermometer versehenen 250 ml - Dreihalskolben wurde eine unter Stickstoff gehaltene Lösung von 3,466 g (20,0 mmol) 41 a und 9,868 g (36,0 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 80 ml trockenem THF auf - 2,5 °C gekühlt. Innerhalb von 60 Minuten wurden im Stickstoffstrom 3,245 g (28,9 mmol) festes Kalium-t-butylat so hinzugegeben, daß die Temperatur des Ansatzes nicht über 0 °C stieg. Die nach kurzer Zeit tiefrot gefärbte Lösung wurde fünf Stunden bei Temperaturen zwischen - 2,5 und 0 °C und nach Entfernung des Kühlbades noch eine weitere Stunde gerührt. Dann wurde der Kolbeninhalt mit 500 ml Toluol verdünnt und mit 250 ml gesättigter Kochsalzlösung, 250 ml 2 n Salzsäure und abermals 250 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde mit 100 und 50 ml Toluol extrahiert. Das nach Trocknung der organischen Phase und Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer erhaltene orange Öl wurde zur Abtrennung des während der Reaktion entstandenen p-Nitrobenzylalkohols und des überschüssigen Bromessigsäure-p-nitrobenzylesters durch eine Säulenchromatographie über 385 g Kieselgel und mit Toluol/Essigsäureethylester 4 : 1 als Fließmittelgemisch gereinigt. Von zwei Fraktionen zu je 200 ml und 32 Fraktionen zu je 60 ml lieferten die Fraktionen 14 - 28 nach Abziehen der Lösungsmittel nur grob gereinigtes Produkt. Durch Aufnehmen in Ether wurde ein Teil der

vorhandenen Verunreinigungen als farbloser Festkörper abgetrennt. Eindampfen des Filtrats und anschließende Trocknung im Hochvakuum lieferten 3,515 g einer gelben, fast ^1H -NMR-reinen Substanz, die im Dünnschichtchromatogramm jedoch noch erhebliche Verunreinigungen zeigte. Daher wurde das Produkt aus 100 ml Isopropanol umkristallisiert. Ein unlöslicher brauner Rückstand, der die Verunreinigung in hohem Maße angereichert enthielt, wurde abgetrennt und verworfen. Aus der Lösung schieden sich bei 0 und $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 1,795 g gelber Kristalldrusen vom Schmelzpunkt $82 - 86\text{ }^{\circ}\text{C}$ ab. Durch Einengen der Mutterlauge konnte eine zweite Fraktion vom Schmelzpunkt $80,5 - 85\text{ }^{\circ}\text{C}$ gewonnen werden (0,676 g). Die Gesamtausbeute betrug 2,470 g (33 %).

Beide Fraktionen zeigten im Dünnschichtchromatogramm immer noch geringfügige Verunreinigungen, die bei der weiteren Umsetzung nicht störten.

250 mg wurden für die Analyse nochmals aus Isopropanol umkristallisiert. Nach Entfernung geringer Mengen ausölen-der Substanz wurden 206 mg farblosen, feinkristallinen Produkts vom Schmelzpunkt $84,5 - 86\text{ }^{\circ}\text{C}$ gewonnen.

B) In einem 10 ml - Schlenkkolben wurde eine Lösung von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF durch Eindampfen von 1,2 ml einer 1 m Lösung der Base (1,2 mmol) in Hexan unter Stickstoff und Lösen in 1,2 ml absolutiertem THF frisch bereitet.

Eine Lösung von 173 mg (1,00 mmol) 41 a in 0,75 ml trok-

kenem DMF wurde in einem 10 ml - Schlenkkolben unter Stickstoff auf -20°C gekühlt und dann langsam mit der frisch bereiteten Basenlösung versetzt. Nach fünfminütigem Rühren bei -20°C und Abkühlung auf -70°C wurde eine Lösung von 302 mg (1,10 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 0,4 ml DMF innerhalb von fünf Minuten zugetropft. Die entstehende orangerote Suspension wurde nach 30 Minuten bei -20°C mit 25 ml Toluol verdünnt und dreimal mit 15 ml einer auf das Zehnfache verdünnten gesättigten Kochsalzlösung gewaschen. Nochmalige Extraktion der wäßrigen Phase mit 20 ml Toluol, Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat, Filtrieren und Eindampfen des Filtrats im Vakuum ergaben eine gelbliche Festsubstanz. Zur Reinigung wurde die Substanz über 10 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester (4 : 1) als Fließmittelgemisch chromatographiert und anschließend noch aus 10 ml Isopropanol umkristallisiert. Die Ausbeute an farblosem, kristallinem Produkt betrug 191 mg (50 %) vom Schmelzpunkt $84,5 - 86^{\circ}\text{C}$.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,29 (s, 9 H, t-Butyl), 1,39 (d, J = 7,5 Hz, 3 H, 3'- CH_3), 3,13 (dq, J = 7,5 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H, 3'-H), 3,73 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,31 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,55 (d, J = 2,5 Hz, 1 H, 4'-H), 5,24 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,48 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,20 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2925 m (aliph. CH), 1755 s (β -Lactam - C=O und Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1450 w, 1390 m und 1360 m (t-Butyl), 1345 s (NO_2), 1185 s (C-O), 1120 m, 1090 m, 1055 w, 965 w, 935 m, 855 m (Ar-H), 790 w.

UV (Ethanol) : $\lambda_{\text{max}} = 264 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10400$)

Elementaranalyse : $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ (366,44)

Ber.: C 55,72 H 6,05 N 7,64 S 8,75

Gef.: C 56,08 H 6,11 N 7,40 S 8,79

DC : $R_f = 0,42$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.6. trans-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidiny)-
3-hydroxy-5,5-dimethylhex-2-ensäure-p-nitrobenzyl-
ester (43 a)

In einem mit Septum versehenen 100 ml - Zweihalskolben wurden 30 ml trockenes THF vorgelegt und unter Stickstoff auf -78°C gekühlt. Es wurden zunächst 6 ml einer 1 m Lösung (6 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF mit einer Spritze hinzugegeben und nach einigen Minuten eine Lösung von 1102 mg (3,00 mmol) 42 a in 4 ml trockenem THF. Zu der sich sofort fast schwarz färbenden Lösung wurden nach 12 Minuten bei -78°C 440 μl (426 mg, 3,17 mmol)

3,3-Dimethylbuttersäurechlorid getropft und im Anschluß daran wurde die Lösung noch 36 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt, ohne daß eine Farbveränderung zu beobachten war. Nach Entfernung des Kühlbades wurde der Ansatz noch fünf Minuten bei Raumtemperatur gerührt und dann mit verdünnter Essigsäure versetzt. Die Lösung nahm eine dunkelrote Farbe an. Der Kolbeninhalt wurde nun in insgesamt 500 ml Toluol aufgenommen und mit 250 ml gesättigter Kochsalzlösung, 250 ml 2 n Salzsäure und nochmals 250 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde noch einmal mit 100 ml Toluol extrahiert. Trocknen der gelben organischen Lösung über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum, Aufnehmen des Rückstandes in Methylenchlorid und Eindampfen dieser Lösung führten zu einem orangen Öl, das über eine Säule mit 45,0 g Kieselgel gereinigt wurde. Für die Aufgabe der Substanz und zur Elution wurde ein 7 : 1 - Gemisch aus Toluol und Essigsäureethylester verwendet. Von den entnommenen 24 Fraktionen zu je 10 ml wurden die Fraktionen 6 - 18 vereinigt. Aus ihnen ließen sich 969 mg (69 %) eines ^1H -NMR-spektroskopisch reinen, orangen harzigen Produktes isolieren. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte Spuren einer Verunreinigung.

Nochmalige Chromatographie von 430 mg über die 30fache Menge Kieselgel mit Hexan/Essigsäureethylester 5 : 1 als Fließmittel ergab 209 mg nur noch wenig gefärbten, analysenreinen sowie 150 mg gering verunreinigten Produkts.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,06 (s, 9 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$),
 1,24 und 1,29 (2 s breit, 12 H, $-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ und $3'-\text{CH}_3$),
 2,21 und 2,74 (2 d, J = 14 Hz, 2 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,10 (dq,
 J = 7 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H, $3'-\text{H}$), 4,46 (d breit, J = 2,5 Hz,
 $4'-\text{H}$), 5,32 (s, 2 H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,51 (d breit, J = 8,5 Hz,
 2 H, $\text{Ar}-\text{H}$), 8,21 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, $\text{Ar}-\text{H}$), 12,36 und
 12,48 (2 s breit, 1 H, E- und Z-Enol-H).

Die meisten Banden waren verbreitert.

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2925 m (aliph. CH), 1765 s (β -Lac-
 tam - C=O), 1650 s (Ester - C=O), 1600 s (C=C), 1520 s
 (NO_2), 1390 m (CH_3 -Def.), 1365 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2),
 1225 s (C-O), 1145 w, 1120 m, 1050 m, 1015 m, 850 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 266 nm (ϵ = 13640)

Elementaranalyse : $\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (464,58)

Ber.: C 59,46 H 6,94 N 6,03 S 6,90

Gef.: C 59,54 H 7,11 N 5,99 S 7,08

DC : R_f = 0,61 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.7. 3-(2,2-Dimethylpropyl)-6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-aza-
bicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitroben-
zylester (45)

Eine Lösung von 477 mg (1,03 mmol) 43 a in 20 ml trockenem Methylenchlorid wurde unter Argon auf - 78 °C gekühlt. Im Verlauf von 3,5 Stunden erfolgte die Zugabe von insgesamt 2,4 ml einer Lösung von Chlor in Tetrachlorkohlenstoff nicht definierten Gehalts, bis alles Edukt verbraucht war und dünnschichtchromatographisch keine Veränderung mehr beobachtet wurde. Nach Entfernen des Kühlbades wurde noch eine Stunde bei Raumtemperatur gerührt, dann wurde überschüssiges Chlor im Stickstoffstrom entfernt und das Lösungsmittel bei Raumtemperatur im Vakuum abgezogen. Das verbliebene orange Öl wurde auf eine Säule mit 13 g Kieselgel aufgebracht und mit einem Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch 97 : 3 eluiert. Es wurden 16 Fraktionen zu je 5 ml und 8 Fraktionen zu je 10 ml entnommen. Nach Abziehen des Lösungsmittels, Eindampfen in Methylenchlorid und zweistündigem Trocknen im Hochvakuum bei Raumtemperatur wurden 234 mg gelblichen Harzes erhalten. Die Untersuchung der einzelnen Fraktionen zeigte, daß es sich bei der isolierten Substanz um ein Gemisch verschiedener Verbindungen handelte. Auswertung der ¹H-NMR-Spektren und Vergleich mit denjenigen analoger von Ihara²⁴ hergestellter Chlorierungsprodukte ergaben als Komponenten cis- und trans-Dichlorid (keine Epimeren in Übereinstimmung mit den Befunden von

Ihara), wenig cis-Chloroenol und einen bereits erheblichen Anteil an Oxapenem.

Es wurde nun weiterverfahren, als ob zu 100 % das Dichlorid vorgelegen hätte.

Eine Lösung der obigen 234 mg (0,53 mmol für 100 % Dichlorid) in 30 ml trockenem DMF wurde unter Stickstoff auf 0 °C gekühlt. Im leichten Stickstoffstrom wurden 139 mg (1,05 mmol) Natriumthiophenolat hinzugegeben. Die zunächst hellgelbe Lösung nahm im Laufe des dreißigminütigen Rührens bei 0 °C eine intensivere Färbung an. Der Ansatz wurde in 200 ml Benzol aufgenommen, mit zweimal 100 ml und zweimal 50 ml 0,5 m Phosphatpuffer pH 7 und 100 ml Wasser gewaschen. Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer und nochmaliges Eindampfen des verbliebenen Rückstandes in Methylenchlorid ergaben eine hellgelbe zähflüssige Substanz. Zur Reinigung wurde die Substanz auf eine mit 8,6 g Kieselgel beladene Säule gegeben und mit einem Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch 97 : 3 eluiert. Von den 10 Fraktionen zu je 3 und 5 Fraktionen zu je 6 ml ergaben die Fraktionen 5 mit 9 nach Abziehen der Lösungsmittel und sechsständiger Trocknung des dabei erhaltenen Rückstandes im Hochvakuum 84 mg (22 % bezogen auf 43 a) des ¹H-NMR-spektroskopisch reinen Oxapenems 45. Die gelbliche harzige Substanz bestand aus einem Gemisch von cis- und trans-Isomerem im Verhältnis von etwa 60 : 40. Noch vorhandene Lösungsmittelreste führten zu einer falschen Analyse. Den Versuch einer Trocknung

im Hochvakuum bei 40 - 50 °C überstand die Verbindung nicht. Die hohe Labilität der Verbindung hatte sich bereits durch ihr Verhalten auf der Dünnschichtplatte angedeutet.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,00 (s, 9 H, $-\text{CH}_2-\text{C}(\underline{\text{CH}_3})_3$), 1,34 (d, J = 7,5 Hz, $\sim$ 1,8 H, 6- CH_3 , cis), 1,47 (d, J = 7,5 Hz, $\sim$ 1,2 H, 6- CH_3 , trans), 2,62 (s, 2 H, $-\underline{\text{CH}_2}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,45 (q, J = 7,5 Hz, $\sim$ 0,4 H, 6-H, trans), 3,91 (dq, J = 7,5 Hz, J = 3,5 Hz, $\sim$ 0,6 H, 6-H, cis), 5,05 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,39 (d, J = 14 Hz, 1 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,51 (s, $\sim$ 0,4 H, 5-H, trans), 5,78 (d, J = 3,5 Hz, $\sim$ 0,6 H, 5-H, cis), 7,54 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,13 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2930 m (aliph. CH), 1805 s (β -Lactam - C=O), 1725 s (Ester - C=O), 1590 s (C=C), 1535 s (NO_2), 1465 w (C-H Def.), 1350 s (NO_2), 1320 s, 1230 w, 1160 m, 1145 m, 1090 s (C-O), 1075 s (=C-O-C), 1015 m, 925 w, 860 m (Ar-H).

11.8. cis-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidiny)-
4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester
(46 b)

In einem etwa 10 ml fassenden, mit Septum versehenen Schlenkkolben wurden 5 ml frisch destillierten THF unter Stickstoff vorgelegt und auf - 78 °C gekühlt. Mit einer Spritze wurden 1 ml einer 1 m Lösung (1 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und nach einigen Minuten eine Lösung von 183 mg (0,50 mmol) 42 b in 1,5 ml trockenem THF hinzugegeben. Die entstehende tiefgefärbte Lösung wurde nach 12minütigem Rühren bei - 78 °C mit 65 µl (64 mg, 0,53 mmol) Pivaloylchlorid versetzt und dann noch 36 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt. Es war eine geringfügige Aufhellung zu beobachten. Nach Entfernung des Kühlbades wurde die Lösung noch fünf Minuten gerührt, dann erfolgte die Zugabe von wenig verdünnter Essigsäure. Die nunmehr tieforange Lösung wurde nach Verdünnung in 100 ml Toluol mit 40 ml 2 n Salzsäure, zweimal 40 ml gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung und zweimal 40 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 50 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat und Eindampfen des verbliebenen Rückstandes in Methylenchlorid wurde ein oranges, öliges Rohprodukt erhalten. Zur Reinigung wurde die Substanz über 7 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethyl-ester 9 : 1 als Fließmittelgemisch chromatographiert. Es

wurden 20 Fraktionen zu je 2 ml und 5 Fraktionen zu je 4 ml genommen. Aus den Fraktionen 8 - 14 ließen sich nach Entfernen der Lösungsmittel und Trocknung im Hochvakuum bei 50 °C 97 mg (43 %) eines hellgelben, analysenreinen Harzes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,13, 1,18, 1,20 (Signale überlagert, 12 H, $3'\text{-CH}_3$ und $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,27 (s, 9 H, $-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 3,33 - 3,77 (m, 1 H, $3'\text{-H}$), 5,04 (d, J = 5 Hz, $\sim 0,5$ H, $4'\text{-H}$), 5,20 (d, J = 5 Hz, $\sim 0,5$ H, $4'\text{-H}$), 5,26 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2\text{-Ar}$), 5,26 (s, $\sim 0,5$ H, 2-H), 5,40 (s, $\sim 0,5$ H, 2-H), 7,54 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,17 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O und Ester - C=O), 1715 s (Carbonyl - C=O), 1610 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1455 m (C-H Def.), 1365 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1170 s (C-O), 1090 m, 1055 m, 1000 w, 965 w, 875 w, 845 m (Ar-H), 825 w.

UV (Ethanol) : λ_{max} = 264 nm (ϵ = 12830)

Elementaranalyse : $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (450,56)

Ber.: C 58,65 H 6,71 N 6,22 S 7,12

Gef.: C 58,46 H 6,54 N 6,35 S 7,15

DC : R_f = 0,54 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.9. trans-2-(4-t-Butylthio-3-methyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester
(46 a)

In einem mit Septum und Hahn versehenen 100 ml - Zweihalskolben wurden 30 ml trockenes THF unter Stickstoff vorgelegt und im Aceton/Trockeneis-Bad auf - 78 °C gekühlt. Nacheinander wurden 6 ml einer 1 m Lösung (6 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und eine Lösung von 1099 mg (3,00 mmol) 42 a in insgesamt 5 ml trockenem THF mit der Spritze hinzugegeben. Die orange Lösung, die sich sofort dunkel färbte, wurde nach 12 Minuten bei - 78 °C mit 390 µl (382 mg, 3,17 mmol) Pivaloylchlorid versetzt und noch 36 Minuten weiterhin bei - 78 °C gerührt. Eine geringfügige Aufhellung und ein Farbwechsel ins Rötliche waren erkennbar. Nach Entfernen des Kühlbades wurde der Ansatz kurz bei Raumtemperatur gerührt und dann mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt. Der Inhalt des Kolbens wurde mit 500 ml Toluol verdünnt und mit 250 ml gesättigter Kochsalzlösung, 250 ml 2 n Salzsäure und 250 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Es erfolgte eine nochmalige Extraktion der wäßrigen Phase mit 100 ml Toluol. Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Filtrieren und Entfernen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer lieferten ein oranges Öl, das über 43 g Kieselgel chromatographisch gereinigt wurde. Zur Elution wurde das Fließmittelsystem Toluol/Essigsäureethylester 7 : 1 verwendet. Von 24 Frak-

tionen zu je 10 ml ergaben die Fraktionen 7 - 14 zusammen 874 mg (65 %) gelborangen harzigen Produkts.

Für die Analyse wurden 370 mg der Substanz nochmals über 11 g Kieselgel mit einem Hexan/Essigsäureethylester-Gemisch (7 : 1) chromatographiert. Dabei wurden 310 mg hellgelben, analysenreinen Harzes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,17 (s, $\sim$ 4,5 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,20 (s, $\sim$ 4,5 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,29, 1,33 und 1,36 (Signale überlagert, 12 H, $3'-\text{CH}_3$ und $-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,92 - 3,32 (m, 1 H, $3'-\text{H}$), 4,49 (d, J = 2 Hz, $\sim$ 0,5 H, $4'-\text{H}$), 4,64 (d, J = 2 Hz, $\sim$ 0,5 H, $4'-\text{H}$), 5,21 (s, $\sim$ 0,5 H, 2-H), 5,26 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,39 (s, $\sim$ 0,5 H, 2-H), 7,52 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,16 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m (aliph. CH), 1765 s (β -Lactam - C=O und Ester - C=O), 1725 s (Carbonyl - C=O), 1610 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 m (C-H Def.), 1380 w und 1365 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1205 m, 1180 s (C-O), 1120 m, 1050 m, 990 w, 960 w, 905 w, 890 w, 855 m, 840 m (Ar-H), 790 w.

UV (Ethanol) : λ_{max} = 264 nm (ϵ = 10160)

Elementaranalyse : $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (450,56)

Ber.: C 58,65 H 6,71 N 6,22 S 7,12

Gef.: C 58,72 H 6,87 N 6,20 S 7,44

DC : $R_F = 0,58$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.10. 3-t-Butyl-6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] -
hept-2-en-2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (48)

Eine unter Argon stehende gelborange Lösung von 451 mg (1,00 mmol) 46 a in 40 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem mit Septum und Hahn versehenen 100 ml - Dreihalskolben auf - 50 °C abgekühlt. Mit einer Spritze wurden 1,6 ml einer vorher bereiteten Lösung von 1,002 g Chlor in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff (160 mg, 2,26 mmol) hinzugegeben, wobei eine geringe Farbvertiefung eintrat. Nach einer Stunde Rühren bei - 50 °C wurde ein Überschuß an Chlor (0,4 ml = 0,56 mmol) zugesetzt und noch 15 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt. Dann wurde das Lösungsmittel im Vakuum bei Raumtemperatur abgezogen. Das verbleibende bräunliche Öl wurde nochmals in Methylenchlorid und Ether eingedampft, kurz im Hochvakuum bei Raumtemperatur getrocknet und über 13 g Kieselgel mit einem Toluol/Essigsäureethylester-Gemisch 15 : 1 chromatographiert. Es wurden 20 Fraktionen zu je 5 ml und 12 Fraktionen zu je 10 ml entnommen. Nach Vereinigung der Fraktionen 2 - 18 wurden 332 mg Chlorierungsprodukt erhalten.

Wie die vorhergehende Auswertung der ^1H -NMR-Spektren der in den verschiedenen Fraktionen enthaltenen Substanzen gezeigt hatte, wurde bei der Chlorierung ganz überwiegend nur

das Monochlorid gebildet und zwar ausschließlich als ein 3 : 1 - Gemisch der beiden cis-Diastereomeren. Daneben ließen sich auch geringe Mengen (ca. 10 %) der diastereomeren Dichloride nachweisen. Letztere lagen ebenfalls nur in der cis-Form vor.

Diastereomere Monochloride I und II :

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,19, 1,21 und 1,32 (3 Signale, 12 H, 4'- CH_3 und t-Butyl, I und II), 3,59 - 3,98 (m, 1 H, 3'-H), 5,30 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 5,50 (s, $\sim 0,25$ H, 2-H, I), 5,70 (s, $\sim 0,75$ H, 2-H, II), 5,94 (d, J = 5 Hz, $\sim 0,25$ H, 4'-H, I), 6,09 (d, J = 5 Hz, $\sim 0,75$ H, 4'-H, II), 7,43 - 7,64 (m, 2 H, Ar-H), 8,17 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl}$ (396,83)

Ber.: C 54,48 H 5,33 N 7,06

Gef.: C 54,61 H 5,32 N 7,57

278 mg (0,7 mmol) des im wesentlichen aus dem Monochlorid 47 bestehenden Materials wurden in 40 ml trockenem DMF gelöst. Nach Abkühlung der unter Argon gehaltenen Lösung auf 0 °C wurden 102 mg (0,77 mmol) Natriumthiophenolat in kleinen Portionen zugesetzt. Es traten eine geringe Farbintensivierung und eine leichte Trübung auf. Die Lösung wurde nach 15 Minuten Rühren bei 0 °C unter Argon in 250 ml Benzol aufgenommen. Waschen der organischen Phase mit 100 ml

0,5 % Phosphatpufferlösung pH 7 und fünfmal 100 ml halbsättigter Kochsalzlösung, Trocknen über Magnesiumsulfat und Eindampfen der organischen Lösung am Rotationsverdampfer ergaben ein zähflüssiges Öl, das nach einigen Stunden bei 0 °C fest wurde. Zur Reinigung wurde die Substanz über 12 g Kieselgel chromatographiert. Als Fließmittel wurde ein Benzol/Essigsäureethylester-Gemisch (97 : 3) verwendet. Von den insgesamt erhaltenen 20,2 ml-Fractionen und 10,4 ml-Fractionen lieferten die Fractionen 9 - 21 nach Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum, Eindampfen des Rückstandes in Ether sowie achtstündiger Trocknung im Hochvakuum bei Raumtemperatur 147 mg (58 %) fast farblosen, $^1\text{H-NMR}$ -spektroskopisch reinen Produkts.

Bezogen auf das eingesetzte Keton 46 a belief sich die Ausbeute auf 49 %.

Das Oxapenem 48 wurde als ein untrennbares Gemisch der beiden Isomeren (cis : trans ~ 1 : 1) erhalten.

Umkristallisieren aus Methylenchlorid/Hexan ergab 99 mg farbloser Kristalle vom Schmelzpunkt 104,5 - 106,5 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,22, 1,29 und 1,44 (3 Signale, 12 H, 6- CH_3 und t-Butyl, cis und trans), 3,68 (q, J = 7,5 Hz, ~ 0,5 H, 6-H, trans), 4,02 (dq, J = 7,5 Hz, J = 3 Hz, ~ 0,5 H, 6-H, cis), 5,15 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,42 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O- CH_2 -Ar), 5,59 (s, ~ 0,5 H, 5-H, trans), 5,82 (d, J = 3 Hz, ~ 0,5 H, 5-H, cis), 7,61 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,15 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2965 m (aliph. CH), 1800 s (β -Lactam - C=O), 1715 s (Ester - C=O), 1585 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1345 s (NO_2), 1310 s (C-O), 1165 m, 1140 m, 1085 s (C-O), 1025 m, 1015 w, 935 m, 850 m (Ar-H).

UV (Dioxan) : $\lambda_{\text{max}} = 277,5 \text{ nm}$ ($\epsilon = 15200$)

MS (70 eV, 110 - 120 °C) : m/e = 360 M^+ , 332 (-CO), 305 ($-\text{CH}_3-\text{C}=\text{C}=\text{O}^+$), 152 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{O}^+$), 136 ($\text{O}_2\text{N}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2^+$), 57 (C_4H_9^+), 56 ($\text{CH}_3-\text{CH}=\text{C}=\text{O}^+$), $m^* = 258,4$ (360/305).

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6$ (360,37)

Ber.: C 59,99 H 5,59 N 7,77

Gef.: C 60,16 H 5,61 N 8,26

DC : $R_f = 0,63$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

11.11. 3-t-Butyl-6-methyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]-
hept-2-en-2-carbonsäure, Na-Salz (49)

120 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) wurden in einem Gemisch aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von 18,4 mg (219 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 2 ml Wasser bei 0 °C vorhydriert. Nach Einspritzen einer Lösung von 72 mg (200 μmol)-48 in 1,5 ml Essigsäureethylester wurde

20 Minuten bei 0 °C hydriert, wobei 20,6 ml Wasserstoff verbraucht wurden (theoretische Menge : 18,4 ml = 4 Äq.). Das Reaktionsgemisch wurde mit 2 ml Wasser verdünnt und über Hyflo filtriert. Die wäßrige Lösung des Salzes wurde dreimal mit insgesamt 18 ml Essigsäureethylester gewaschen und abgetrennt. Essigsäureethylesterreste wurden im Hochvakuum entfernt.

Nach Gefriertrocknung bei 10^{-3} Torr wurden 18,5 mg (37 %) eines beigen Pulvers erhalten.

UV (H_2O) : $\lambda_{max} = 260 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

360 MHz - 1H -NMR (D_2O) : $\delta = 1,24$ und $1,27$ (2 s, 9 H, t-Butyl, cis und trans), $1,38$ (d, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $6-CH_3$)*
 $3,67$ (q, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $\sim 0,5 \text{ H}$, 6-H, trans), $3,96$ (dq, $J = 7,5 \text{ Hz}$, $J = 3 \text{ Hz}$, $\sim 0,5 \text{ H}$, 6-H, cis), $5,55$ (s, $\sim 0,5 \text{ H}$, 5-H, trans), $5,80$ (d, $J = 3 \text{ Hz}$, $\sim 0,5 \text{ H}$, 5-H, cis).

* Die Lage des zweiten CH_3 -Dubletts konnte infolge Überlagerung nicht festgelegt werden.

12. Synthese des Natriumsalzes der 3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-2-carbonsäure und ein weiterer Versuch

12.1. 4-t-Butylthioazetidin-2-on (51)

In einem mit Thermometer und Tropftrichter versehenen

250 ml - Dreihalskolben wurden 9,689 g (75,0 mmol) 50 und 9,7 ml (7,76 g, 86,0 mmol) t-Butylmercaptan in 75 ml trockenem THF unter Stickstoff gelöst. Nach Abkühlung auf - 3 °C in einer Eis/Kochsalz-Mischung wurden 12,9 ml (13,13 g, 86,3 mmol) DBU innerhalb von 35 Minuten so hinzugegossen, daß die Reaktionstemperatur nicht über - 1,5 °C stieg. Im Tropftrichter und an der Gefäßwandung befindliche DBU-Reste wurden mit etwa 10 ml THF nachgespült. Die zunächst farblose klare Lösung nahm eine gelbliche Färbung an. Nachdem etwa die Hälfte des DBU zugegeben worden war, trat ein farbloser Niederschlag auf. Der Ansatz wurde unter Stickstoff vier Stunden bei Temperaturen zwischen - 1,5 und 0 °C und nach Aufbewahrung über Nacht bei 0 °C (17 Stunden) noch eineinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt, wobei sich bei Erreichen einer Temperatur von etwa 10 °C der Niederschlag auflöste. Die gelbe Lösung wurde in 500 ml Methylenchlorid aufgenommen und mit 100 ml gesättigter Kochsalzlösung, 100 ml 2 n Salzsäure und weiteren 100 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Die etwas schaumige wäßrige Phase wurde noch zweimal mit je 100 ml Methylenchlorid ausgeschüttelt. Nach Trocknung der organischen Phase über Magnesiumsulfat wurde das Lösungsmittel bei Normaldruck und 80 - 90 °C Badtemperatur abdestilliert. Lösungsmittelreste wurden im Vakuum entfernt. Der verbliebene gelblichweiße, feste Rückstand wurde nach Eindampfen in einem Ether/Methylenchlorid-Gemisch und Trocknung im Hochvakuum bei 40 - 50 °C über 300 g Kieselgel chromatographisch gereinigt. Als Fließmittel diente ein 2 : 1 - Ge-

misch aus Toluol und Essigsäureethylester. Von 15 Fraktionen zu je 300 ml ergaben die Fraktionen 3 - 9 nach Abziehen der Lösungsmittel und siebenstündiger Trocknung im Hochvakuum bei 40 - 50 °C 9,41 g (79 %) farbloser Festsubstanz, die im Dünnschichtchromatogramm noch Spuren einer chromatographisch nicht abtrennbaren Verunreinigung erkennen ließ (Schmelzbereich 114 - 118 °C).

Für die Analyse wurde eine 200 mg - Probe der Substanz aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisiert. Es wurden 132 mg analysenreiner Substanz vom Schmelzpunkt 119 - 121 °C erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,37 (s, 9 H, t-Butyl), 2,84 (ddd, J = 15 Hz, J = 3 Hz, J = 2 Hz, 1 H, transständiges 3-H), 3,43 (ddd, J = 15 Hz, J = 5 Hz, J = 2 Hz, 1 H, cisständiges 3-H), 4,87 (dd, J = 5 Hz, J = 3 Hz, 1 H, 4'-H), 6,78 s breit, 1 H, NH).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 3410 m (NH), 2955 m, 2905 w und 2865 w (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1460 w, 1410 w, (C-H Def.), 1370 m (t-Butyl), 1340 m, 1230 w, 1160 s, 1085 w, 970 m, 925 m.

Elementaranalyse : $\text{C}_7\text{H}_{13}\text{NOS}$ (159,25)

Ber.: C 52,80 H 8,23 N 8,80 S 20,13

Gef.: C 52,97 H 8,08 N 8,94 S 20,26

DC : R_f = 0,23 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

12.2. (4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidinyl)-essigsäure-
p-nitrobenzylester (52)

A) In einem mit Thermometer versehenen 250 ml - Dreihalskolben wurde eine Lösung von 3,180 g (20,0 mmol) 51 und 9,861 g (36,0 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester unter Stickstoff auf - 3,5 °C gekühlt. Innerhalb von 65 Minuten wurden 3,246 g (28,9 mmol) festes Kalium-t-butylat im Stickstoffstrom so hinzugegeben, daß die Temperatur des Ansatzes nicht über - 2 °C stieg. Das tiefrote Reaktionsgemisch wurde fünf Stunden bei Temperaturen zwischen - 2 und 0 °C und nach Entfernung des Kühlbades noch eine Stunde gerührt. Dann wurde der Kolbeninhalt in 500 ml Toluol aufgenommen und mit 200 ml 2 n Salzsäure ausgeschüttelt. Die gelbe organische Phase wurde mit 200 ml gesättigter Kochsalzlösung neutral gewaschen, während die zuvor abgetrennte sehr schaumige wäßrige Phase noch zweimal mit insgesamt 400 ml Toluol extrahiert wurde. Die vereinigten organischen Lösungen lieferten nach Trocknung über Magnesiumsulfat und Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum ein dunkelrotes Öl. Durch Chromatographie über 320 g Kieselgel mit einem Fließmittelgemisch aus Toluol und Essigsäureethylester im Verhältnis 4 : 1 wurden überschüssiger Bromessigsäure-p-nitrobenzylester und während der Reaktion entstandener p-Nitrobenzylalkohol abgetrennt. Die produkthaltigen Fraktionen lieferten 1243 mg gelber Festsubstanz, die zwar ¹H-NMR-spektroskopisch schon fast rein war, jedoch waren im Dünn-

schichtchromatogramm noch erhebliche Verunreinigungen festzustellen. Zur weiteren Reinigung wurde die Substanz aus 50 ml Isopropanol umkristallisiert. Ein unlöslicher, brauner Rückstand wurde abgetrennt. Nachdem sich aus der Lösung zuerst ein gelbbraunes Öl abgeschieden hatte, kristallisierte das Produkt bei 0 und - 20 °C in feinen gelblichen Nadeln. Achtstündige Trocknung im Hochvakuum ergab 765 mg (11 %) spektroskopisch reinen Materials. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte noch Spuren einer Verunreinigung; für alle präparativen Zwecke war der Reinheitsgrad ausreichend.

Für eine Analyse wurden 51,5 mg nochmals aus 2 ml Isopropanol umkristallisiert. Man erhielt 43 mg farblosen 52 vom Schmelzpunkt 82 - 83,5 °C.

B) In einem 25 ml - Schlenkkolben wurde eine Lösung von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF durch Eindampfen von 14,4 ml einer 1 m Lösung der Base in Hexan (14,4 mmol) unter Stickstoff und Lösen in 6 ml absolutiertem THF frisch bereitet.

Eine Lösung von 1910 mg (12,0 mmol) 51 in 6 ml trockenem DMF wurde in einem 50 ml - Schlenkkolben unter Stickstoff auf - 20 °C gekühlt und dann langsam mit der frisch hergestellten Basenlösung versetzt. Nach fünfzehnminütigem Rühren der intensiv gelben Lösung bei - 20 °C flockte ein gelber Feststoff aus. Trotz Zusatz weiterer 6 ml trockenen DMF und Erwärmen auf 0 °C war die Bildung einer dicken Suspension nicht zu verhindern. Die Zugabe einer Lösung von 4,93 g

(18,0 mmol) Bromessigsäure-p-nitrobenzylester in 6 ml DMF erfolgte unter kräftigem Rühren bei -70°C . Die nun entstehende rote Suspension wurde auf -20°C aufgewärmt und noch 30 Minuten gerührt. Ein Versuch, das Reaktionsgemisch sofort in Toluol/Essigsäureethylester (5 : 1) aufzunehmen und über 210 g Kieselgel zu reinigen, führte zu keiner Trennung. Nach Rückgewinnung der gesamten Substanz und Abziehen des Lösungsmittels wurde der erhaltene Rückstand in 50 ml Toluol aufgenommen. Waschen der organischen Phase mit dreimal 30 ml einer auf das zehnfache Volumen verdünnten gesättigten Kochsalzlösung, nochmalige Extraktion der wäßrigen Phase mit 30 ml Toluol, Trocknen der vereinigten organischen Lösungen über Magnesiumsulfat, Filtrieren und Eindampfen des so erhaltenen Filtrats im Vakuum ergaben nach Trocknung im Hochvakuum bei Raumtemperatur 4,3 g festen Produkts. Zur Reinigung wurde die Substanz über 120 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester (4 : 1) als Fließmittelgemisch chromatographiert. Es wurden 3 Fraktionen zu je 50 ml, 27 Fraktionen zu je 20 ml und nochmals 6 Fraktionen zu je 50 ml genommen. Die Fraktionen 19 mit 34 lieferten 2,09 g kristallinen Materials, das zur Entfernung noch enthaltener Verunreinigungen aus 100 ml Isopropanol umkristallisiert wurde. Es ließen sich 1559 mg farblosen Produkts vom Schmelzpunkt $82,5 - 84^{\circ}\text{C}$ gewinnen. Eine zweite Kristallfraktion ergab noch 173 mg, so daß die Gesamtausbeute 1732 mg (41 %) betrug.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,29 (s, 9 H, t-Butyl), 2,88 (dd, J = 15 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H, transständiges 3'-H), 3,47 (dd, J = 15 Hz, J = 5 Hz, 1 H, cisständiges 3'-H), 3,62 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,26 (d, J = 18 Hz, 1 H, 2-H), 4,90 (dd, J = 5 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H, 4'-H), 5,21 (s, 2 H, -O-CH₂-Ar), 7,46 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,16 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH₂Cl₂ (cm⁻¹) : 2955 m (aliph. CH), 1770 s (β-Lactam - C=O), 1755 s (Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1530 s (NO₂), 1455 w (C-H Def.), 1390 m und 1375 m (CH₃-Def.), 1365 m (t-Butyl), 1345 s (NO₂), 1180 s (C-O), 1110 m, 1080 w, 1060 w, 945 m, 915 m, 855 m, 845 m (Ar-H), 800 w.

UV (Ethanol) : λ_{max} = 263,5 nm (ϵ = 10140)

Elementaranalyse : C₁₆H₂₀N₂O₅S (352,41)

Ber.: C 54,53 H 5,72 N 7,95 S 9,10

Gef.: C 54,71 H 5,63 N 7,99 S 9,14

DC : R_f = 0,38 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

12.3. 2-(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidiny1)-4,4-dimethyl-3-oxopentansäure-p-nitrobenzylester (53)

30 ml trockenes THF wurden in einem mit Septum versehe-

nen 100 ml – Schlenkkolben unter Stickstoff auf -78°C gekühlt. Es wurden 6 ml einer 1 m Lösung (6 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF und kurz darauf eine Lösung von 1059 mg (3,01 mmol) 52 in insgesamt 7 ml trockenem THF hinzugegeben. Die intensiv gefärbte Lösung wurde nach 10minütigem Rühren bei -78°C mit 390 μl (382 mg, 3,17 mmol) Pivaloylchlorid versetzt und weitere 36 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt, wobei eine geringfügige Aufhellung zu beobachten war. Nach Entfernung des Kühlbades wurde die Reaktionslösung noch fünf Minuten gerührt und dann mit wenig verdünnter Essigsäure versetzt. Der Ansatz wurde in 500 ml Toluol aufgenommen, die organische Phase mit 200 ml 2 n Salzsäure und zweimal 200 ml gesättigter Kochsalzlösung gewaschen, die wäßrige Phase nochmals mit 100 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknung der gesamten organischen Lösung über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum wurde ein zähflüssiges, dunkelrotes Öl erhalten. Die Reinigung des Rohproduktes erfolgte säulenchromatographisch über 40 g Kieselgel. Eluiert wurde die Substanz mit einem Gemisch aus Toluol und Essigsäure-ethylester im Verhältnis 9 : 1. Von 44 Fraktionen zu je 10 ml lieferten die Fraktionen 7 – 15 zusammen 795 mg (61 %) eines ^1H -NMR-spektroskopisch und DC-reinen gelben Harzes.

Für analytische Zwecke wurden 247 mg nochmals über 7,5 g Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester (4 : 1) als Fließmittelgemisch gereinigt. Es wurden 225 mg eines nur noch schwach gelblich gefärbten Harzes erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,18 (s, $\sim$ 4,5 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,21 (s, $\sim$ 4,5 H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 1,29 (s, 9 H, $-\text{S}-\text{C}(\text{CH}_3)_3$), 2,91 (dd, J = 15 Hz, J = 2,5 Hz, $\sim$ 0,5 H, transständiges 3'-H), 2,94 (dd, J = 15 Hz, J = 2,5 Hz, $\sim$ 0,5 H, transständiges 3'-H), 3,55 (dd, J = 15 Hz, J = 5 Hz, $\sim$ 0,5 H, cisständiges 3'-H), 3,61 (dd, J = 15 Hz, J = 5 Hz, $\sim$ 0,5 H, cisständiges 3'-H), 4,95 (dd, J = 5 Hz, J = 2,5 Hz, $\sim$ 0,5 H, 4'-H), 5,07 (dd, J = 5 Hz, J = 2,5 Hz, $\sim$ 0,5 H, 4'-H), 5,29 (s, $\sim$ 2,5 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$ und 2-H), 5,43 (s, $\sim$ 0,5 H, 2-H), 7,56 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,19 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2970 m, 2905 w und 2870 w (aliph. CH), 1770 s (β -Lactam - C=O), 1760 s (Ester - C=O), 1715 s (Carbonyl - C=O), 1610 m (C=C), 1530 s (NO_2), 1480 w, 1460 w (C-H Def.), 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 m, 1180 s (C-O), 1125 w, 1110 w, 1060 w, 1040 w, 995 m, 845 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 265 nm (ϵ = 11790)

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (436,53)

Ber.: C 57,78 H 6,47 N 6,42 S 7,35

Gef.: C 57,52 H 6,47 N 6,34 S 7,35

DC : R_f = 0,55 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

12.4. 3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-
2-carbonsäure-p-nitrobenzylester (55)

A) Eine Lösung von 109 mg (0,25 mmol) 53 in 63 ml trockenem DME wurde unter kräftigem Rühren zusammen mit 170 mg (0,625 mmol) Quecksilber(II)chlorid und 135 mg (0,625 mmol) gelbem Quecksilber(II)oxid zweieinhalb Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach dem Erkalten wurde das Reaktionsgemisch in 250 ml Benzol aufgenommen und mit zweimal 50 ml halbgesättigter Kochsalzlösung, 50 ml 2 n Natronlauge und zweimal 50 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Trocknung der organischen Lösung mit Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum ergaben etwa 40 mg Substanz, die über 1 g Florisil mit Benzol/Essigsäureethylester 97 : 3 als Fließmittel chromatographiert wurden. Es wurden 15 Fraktionen von je etwa 0,5 ml und 5 Fraktionen zu je 1,5 ml genommen. Die Fraktionen 2 - 5 lieferten 15 mg leicht verunreinigten Produkts. Erst nach Umkristallisieren aus einem Tetrachlorkohlenstoff/Hexan-Gemisch wurden 6 mg (7 %) ¹H-NMR-spektroskopisch reinen Oxapenems erhalten.

Trotz verschiedener Abänderungen der Aufarbeitungsbedingungen konnte die Ausbeute nicht wesentlich erhöht werden (max. 12 %).

B) Eine Lösung von 439 mg (1,00 mmol) 53 in 20 ml trockenem Methylenchlorid wurde in einem 100 ml - Schlenkkolben unter Argon auf - 50 °C gekühlt und über ein Septum mit

1,6 ml einer Lösung von 1040 mg Chlor in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff (166 mg, 2,35 mmol) versetzt, wobei eine Farbvertiefung eintrat. Dreißigminütiges Rühren bei - 50 °C und nachfolgendes Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum bei Raumtemperatur führten zu einem orangebraunen, zähflüssigen Rückstand, der nach kurzer Zeit fest wurde. Nach einer groben Reinigung der Substanz über 4 g Kieselgel (nur die etwa 10fache Menge!) mit Benzol/Essigsäureethylester 7 : 1 als Fließmittel wurden 348 mg eines gelben Harzes erhalten.

Wie die Untersuchung einer bereits in einem vorhergehenden Ansatz auf gleiche Weise hergestellten Substanz anhand von ¹H-NMR-Spektren ergeben hatte, bestand das Produkt der Chlorierung aus einem Gemisch der beiden diastereomeren Monochloride 54 (~ 1 : 1), das sich sehr gut aus einem Methylenchlorid/Hexan-Gemisch umkristallisieren ließ und so analysenrein erhalten werden konnte.

In dem Kristallisat, das im Bereich von 96 - 100,5 °C unter Zersetzung schmolz, lagen die beiden Diastereomeren in einem ungefähren Verhältnis von 60 : 40 vor.

Diastereomere Monochloride I und II :

¹H-NMR (CD₃CN) : δ = 1,04 (s, ~ 5,4 H, t-Butyl, I), 1,21 (s, ~ 3,6 H, t-Butyl, II), 3,05 - 3,86 (m, 1 H, 3'-H), 5,29 (s, 2 H, -O-CH₂-Ar), 5,52 (s, ~ 0,6 H, 2-H, I), 5,71 (s, ~ 0,4 H, 2-H, II), 5,84 (dd, J = 4 Hz, J = 2 Hz, ~ 0,6 H, 4'-H, I), 5,98 (dd, J = 4 Hz, J = 2 Hz, ~ 0,4 H, 4'-H, II),

7,51 (d, J = 9 Hz, ~ 0,8 H, Ar-H, II), 7,55 (d, J = 9 Hz, ~ 1,2 H, Ar-H, I), 8,19 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H, I und II).

Elementaranalyse : $C_{17}H_{18}N_2O_6Cl$ (417,25)

Ber.: C 53,34 H 5,00 N 7,32

Gef.: C 53,29 H 5,04 N 7,22

Das gesamte Monochlorid (348 mg = 0,91 mmol) wurde in 40 ml trockenem DMF gelöst. Die unter Argon gehaltene gelbe Lösung wurde bei 0 °C mit 132 mg (1,00 mmol) Natriumthiophenolat versetzt, was eine leichte Trübung und eine vorübergehende Farbvertiefung bewirkte. Nach 15 Minuten Rühren bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch mit 250 ml Benzol verdünnt und mit dreimal 100 ml 0,5 m Phosphatpufferlösung pH 7 sowie dreimal 100 ml einer halbgesättigten Kochsalzlösung gewaschen. Die wäßrige Phase wurde nochmals mit 50 ml Benzol extrahiert. Trocknung der organischen Lösung über Magnesiumsulfat, Filtration und Eindampfen des Filtrats führten zur Isolierung eines fahlgelben Festkörpers, der über 9 g Kieselgel unter Verwendung eines 97 : 3 - Gemisches aus Benzol und Essigsäureethylester als Fließmittel chromatographisch gereinigt wurde. Von 20 Fraktionen zu je 3 ml lieferten die Fraktionen 4 - 8 237 mg Produkt, das noch aus Methylenchlorid/Hexan umkristallisiert wurde. Man erhielt 151 mg (43 %) blaßgelber Kristalle. 55 besaß einen Schmelzpunkt von 142 - 144 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3CN) : δ = 1,29 (s, 9 H, t-Butyl), 3,40 (dd, J = 17 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 6-H transständig), 3,79 (dd, J = 17 Hz, J = 2,5 Hz, 1 H, 6-H cisständig), 5,16 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 5,42 (d, J = 14 Hz, 1 H, -O-CH₂-Ar), 5,85 (dd, J = 2,5 Hz, J = 1 Hz, 1 H, 5-H), 7,61 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,17 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2955 m (aliph. CH), 1804 s (β -Lactam - C=O), 1715 s (Ester - C=O), 1610 m, 1585 s (C=C), 1525 s (NO_2), 1350 s (NO_2), 1315 s (C-O), 1200 m, 1165 s, 1145 s, 1120 m, 1080 s (C-O), 1040 m, 1025 s, 1015 m, 885 m, 855 m (Ar-H), 840 m.

UV (Dioxan) : λ_{max} = 277 nm (ϵ = 15340)

MS (70 eV, 130 °C) : m/e = 346 M^+ , 318 (-CO), 304 (-C₂H₂O), 289 (-C₄H₉⁺), 168 (-O₂N-C₆H₄-CH₂⁺), 153 (O₂N-C₆H₄-CH₂OH⁺), 152 (O₂N-C₆H₄-CH₂-O⁺), 136 (O₂N-C₆H₄-CH₂⁺), 57 (C₄H₉⁺).

Elementaranalyse : C₁₇H₁₈N₂O₆ (346,34)

Ber.: C 58,96 H 5,24 N 8,09

Gef.: C 58,81 H 5,24 N 7,96

DC : R_f = 0,62 (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

12.5. 3-t-Butyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo [3.2.0] hept-2-en-
2-carbonsäure, Na-Salz (56)

Nach der Vorhydrierung einer Suspension von 30 mg Palladium auf Aktivkohle (10 %) in einer Mischung aus 2 ml Essigsäureethylester und einer Lösung von 4,7 mg (56 μmol) Natriumhydrogencarbonat in 1 ml Wasser wurde über ein Septum eine Lösung von 17,3 mg (50 μmol) 55 in 1 ml Essigsäureethylester bei 0 °C in das Reaktionsgefäß eingespritzt und hydriert. Innerhalb der 20 Minuten währenden Hydrierung wurden 5,4 ml Wasserstoff verbraucht, etwas mehr als die theoretisch erforderliche Menge (4,6 ml). Das mehrphasige Reaktionsgemisch wurde sodann mit 2 ml Essigsäureethylester verdünnt und filtriert. Die wäßrige Phase wurde wie üblich gewaschen, abgetrennt und von Essigsäureethylesterresten befreit.

Eine 10 μl -Probe der Salzlösung wurde in einer Quarzküvette mit 2,7 ml Wasser verdünnt und die Extinktion der verdünnten Lösung bestimmt. Aus $E = 0,811$ errechnete sich die Ausbeute zu 8,8 mg (75 %).

UV (H_2O) : $\lambda_{\text{max}} = 269 \text{ nm}$ ($\epsilon = 5800$)

360 MHz - ^1H -NMR (D_2O) : $\delta = 1,23$ (s, 9 H, t-Butyl), 3,43 (dd, $J = 18 \text{ Hz}$, $J = 1 \text{ Hz}$, 1 H, 6-H transständig), 3,72 (dd, $J = 18 \text{ Hz}$, $J = 2,5 \text{ Hz}$, 1 H, 6-H cisständig), 5,82 (s, 1 H, 5-H).

12.6. 2-(4-t-Butylthio-2-oxo-1-azetidinyl)-3-hydroxy-
but-2-ensäure-p-nitrobenzylester (57)

6,8 ml einer 1 m Lösung (6,8 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF wurden unter Stickstoff bei - 78 °C in 20 ml trockenem THF gelöst und mit einer Lösung von 785 mg (2,23 mmol) 52 in insgesamt 6 ml trockenem THF versetzt. Nach 12 Minuten Rühren bei - 78 °C wurden zu der nunmehr tiefschwarzen Lösung 170 µl (188 mg, 2,39 mmol) Acetylchlorid getropft. Es wurde 35 Minuten bei gleicher Temperatur gerührt, wobei die Lösung tiefgefärbt blieb, dann das Kühlbad entfernt und nach fünf Minuten der Ansatz mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt. Nach Verdünnen der Lösung mit 200 ml Toluol wurde mit 100 ml 2 n Salzsäure und zweimal 100 ml halbgesättigter Kochsalzlösung gewaschen. Nochmalige Extraktion der wäßrigen Phase mit 50 ml Toluol, Trocknen der organischen Lösungen über Magnesiumsulfat, Filtrieren und Eindampfen des Filtrats im Vakuum ergaben ein braunes Öl. Zur Reinigung wurde die Substanz in einem Hexan/Essigsäureethylester-Gemisch (4 : 1) gelöst und auf eine mit 26,4 g Kieselgel gefüllte Säule gegeben. Die Elution erfolgte zunächst mit dem 4 : 1 - Gemisch (10 Fraktionen zu je 5 ml und 30 Fraktionen zu je 10 ml) und dann mit einem 1 : 1 - Gemisch der beiden Komponenten (30 Fraktionen zu je 15 ml). Die Fraktionen 40 - 60 lieferten 459 mg (52 %) orangen Öls.

Nach nochmaliger Chromatographie über 13,8 g Kieselgel

mit Toluol/Essigsäureethylester (9 : 1) als Fließmittelgemisch wurde die Substanz als analysenreines gelbes Harz erhalten.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,19 (s, 9 H, t-Butyl), 2,12 (s, 3 H, 3- CH_3), 2,82 (dd, J = 15 Hz, J = 3 Hz, 1 H, 3'-H transständig), 3,36 (dd, J = 15 Hz, J = 5 Hz, 1 H, 3'-H cisständig), 4,82 (dd, J = 5 Hz, J = 3 Hz, 1 H, 4'-H), 5,27 (s, 2 H, - $\text{O-CH}_2\text{-Ar}$), 7,43 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,11 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 11,98 (s breit, 1 H, Enol-H).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1670 s (Ester - C=O), 1610 s (C=C), 1530 s (NO_2), 1370 s (t-Butyl), 1345 s (NO_2), 1230 m, 1205 s (C-O), 1155 m, 1125 m, 1065 m, 985 m, 960 w, 915 w, 850 m (Ar-H), 800 m.

UV (Ethanol) : λ_{max} = 266 nm (ϵ = 18940)

Elementaranalyse : $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ (394,45)

Ber.: C 54,81 H 5,62 N 7,10 S 8,13

Gef.: C 54,62 H 5,43 N 7,27 S 8,18

13. Versuche zur Darstellung von Penemen über die Cyclisierung mit Quecksilber(II)chlorid und Quecksilber(II)-oxid

13.1. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-3-(methylsulfonyl)oxy-but-2-ensäure-p-nitrobenzylester (59)

Zu einer unter Stickstoff gehaltenen Lösung von 845 mg (2,00 mmol) 23 a in 30 ml trockenem THF wurden bei 0 °C nacheinander 220 µl (326 mg, 2,84 mmol) Mesylchlorid und 440 µl (319 mg, 3,16 mmol) Triethylamin getropft, wobei sich ein farbloser Niederschlag abschied. Nach zweieinhalb-stündigem Rühren bei 0 °C wurde das Reaktionsgemisch in 500 ml Toluol aufgenommen. Die Lösung wurde zweimal mit je 250 ml eiskalter 0,5 n Salzsäure und 300 ml eiskaltem Wasser gewaschen. Die gesamte wäßrige Phase wurde nochmals mit 100 ml Toluol extrahiert. Nach Trocknen der organischen Phase über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels am Rotationsverdampfer, mehrmaligem Eindampfen des Rückstandes in Ether und fünfstündiger Trocknung im Hochvakuum bei 70 °C verblieben 925 mg (92 %) eines hellgelben Festkörpers. Man erhielt das Produkt als ein nahezu ¹H-NMR-reines Gemisch aus Z- und E-Isomerem in einem Verhältnis von etwa 5 : 1.

Durch Kristallisation aus Methylenchlorid/Hexan ließ

sich das kristalline Z-Isomere zu einem großen Teil abtrennen. Es wurden 479 mg (48 %) Z-Isomeres erhalten.

Für die Analyse wurden 75 mg über 2,1 g Kieselgel mit Toluol/Essigsäureethylester (15 : 1) als Fließmittel chromatographiert und anschließend aus 5 ml Isopropanol umkristallisiert (50 mg sehr feiner, farbloser Nadeln vom Schmelzpunkt 133 - 135 °C).

Durch eine zweite Kristallisation aus der Lösung des Rohprodukts, die zur Abscheidung weiteren, größtenteils Z-Isomeres enthaltenden Mesylats führte, wurde das E-Isomere in der Mutterlauge stark angereichert. Die in der Mutterlauge verbliebenen 198 mg Mesylat wurden zur Gewinnung des reinen E-Isomeren über 6 g Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 5 : 1 als Fließmittel chromatographiert. Es wurden 82 mg an harzigem E-Mesylat gewonnen.

Die Auftrennung der kristallisierten Mischfraktion (siehe oben) erfolgte mithilfe des gleichen Fließmittelsystems.

Insgesamt führte die Trennung der Isomeren zu 127 mg E- und 584 mg Z-Mesylat.

Z-Mesylat :

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,15 (s, 3 H, 3'-CH₃), 1,23 (s, 9 H, t-Butyl), 1,32 (s, 3 H, 3'-CH₃), 2,57 (s, 3 H, 3-CH₃), 3,13 (s, 3 H, -OSO₂-CH₃), 4,75 (s, 1 H, 4'-H), 5,22 (s, 2 H, -O-CH₂-Ar), 7,47 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,13 (d,

$J = 8,5 \text{ Hz}, 2 \text{ H, Ar-H}.$

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m, 2890 w und 2855 w (aliph. CH),
1765 s (β -Lactam - C=O), 1730 s (Ester - C=O), 1640 m,
1610 m (C=C), 1530 s (NO_2), 1460 w (C-H Def.), 1390 s,
1365 s breit (t-Butyl und $-\text{SO}_2-\text{O}-$), 1350 s (NO_2), 1210 m,
1165 m ($-\text{SO}_2-\text{O}-$), 1140 m, 1095 m, 1065 m (C-O), 1015 w,
990 m, 970 m, 940 m, 885 m, 855 m (Ar-H), 845 m, 820 w.

UV (Ethanol) : $\lambda_{\text{max}} = 263 \text{ nm}$ (qualitativ)

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (500,59)

Ber.: C 50,39 H 5,64 N 5,60 S 12,81

Gef.: C 50,51 H 5,71 N 5,33 S 12,84

DC : $R_f = 0,35$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

E-Mesylat :

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : $\delta = 1,21$ (s, 12 H, 3'- CH_3 und t-Butyl),
1,31 (s, 3 H, 3'- CH_3), 2,23 (s, 3 H, 3- CH_3), 3,07 (s, 3 H,
 $-\text{OSO}_2-\text{CH}_3$), 4,70 (s, 1 H, 4'-H), 5,21 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$),
7,47 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}, 2 \text{ H, Ar-H}$), 8,11 (d, $J = 8,5 \text{ Hz}, 2 \text{ H, Ar-H}$).

IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m und 2865 w (aliph. CH),
1765 s (β -Lactam - C=O), 1735 s (Ester - C=O), 1640 m,
1610 m (C=C), 1530 s (NO_2), 1455 w (C-H Def.), 1365 s breit
(t-Butyl und $-\text{SO}_2-\text{O}-$), 1350 s (NO_2), 1205 m, 1165 s
($-\text{SO}_2-\text{O}-$), 1095 w, 1065 m (C-O), 1015 w, 970 m, 885 m,
855 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : $\lambda_{\text{max}} = 262 \text{ nm}$ ($\epsilon = 10040$)

Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$ (500,59)

Ber.: C 50,39 H 5,64 N 5,60 S 12,81

Gef.: C 50,75 H 5,73 N 5,31 S 12,78

DC : $R_f = 0,41$ (Toluol/Essigsäureethylester 1 : 1)

13.2. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidiny)-
3-triphenylmethylthiobut-2-ensäure-p-nitrobenzyl-
ester (62)

Eine Lösung von 150 mg (0,30 mmol) kristallinem Mesylat
59 und 91 mg (0,33 mmol) Tritylmercaptan in 1,5 ml trocke-
nem THF wurde mit 84 μl (61 mg, 0,60 mmol) Triethylamin ver-
setzt und zweieinhalb Stunden bei Raumtemperatur gerührt.
Dann wurde der Ansatz in 150 ml Toluol aufgenommen und mit
75 ml 0,1 n Salzsäure und zweimal 75 ml 0,5 m Phosphatpuf-
fer pH 7 gewaschen. Nach Trocknung der organischen Phase

über Magnesiumsulfat, Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum und Trocknung im Hochvakuum wurde ein schaumiges Rohprodukt erhalten, das durch Chromatographie über 6,5 g Kieselgel mit Petrolether/Essigsäureethylester 4 : 1 als Fließmittel chromatographisch gereinigt wurde. Von 20 Fraktionen zu je 2 ml und 4 Fraktionen zu je 6 ml lieferten die Fraktionen 8 - 18 insgesamt 130 mg Produkt. Aus den Fraktionen 5 - 7 wurden noch 39 mg leicht verunreinigten Materials isoliert, so daß die Ausbeute 169 mg (83 %) betrug.

Umkristallisieren des in den Fraktionen 8 - 18 enthaltenen Produkts aus Methylenchlorid/Hexan ergab 94 mg vom Schmelzpunkt 137 - 139 °C.

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) : δ = 1,19 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,26 (s, 9 H, t-Butyl), 1,29 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,89 (s, 3 H, $\text{C}=\text{C}-\underline{\text{CH}_3}$), 4,89 (s, 1 H, 4'-H), 5,16 (s, 2 H, $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ar}$), 7,15 - 7,41 (m, 15 H, $-\text{S}-\text{C}(\text{C}_6\text{H}_5)_3$), 7,49 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H), 8,16 (d, J = 8,5 Hz, 2 H, Ar-H).

13.3. 2-(4-t-Butylthio-3,3-dimethyl-2-oxo-1-azetidinyl)-
3,3-bis(methylthio)-prop-2-ensäure-p-nitrobenzyl-
ester (63)

5 ml trockenes THF wurden unter Stickstoff auf - 78 °C gekühlt. Die aufeinanderfolgende Zugabe von 1 ml einer 1 m Lösung (1 mmol) von Lithium-bis-trimethylsilylamid in THF

und einer Lösung von 190 mg (0,50 mmol) 21 in insgesamt 3 ml THF führte zu der üblichen tiefgefärbten Lösung des Anions, welche nach 10minütigem Rühren bei - 78 °C zunächst mit 80 µl (101 mg, 1,33 mmol) Schwefelkohlenstoff und nach weiteren 30 Minuten mit 62 µl (141 mg, 1,00 mmol) Methyljodid versetzt wurde. Nach dreieinhalbstündiger Reaktionsdauer wurde der Ansatz mit etwas verdünnter Essigsäure versetzt und aufgearbeitet. Verdünnen in 50 ml Toluol, Waschen mit 20 ml 2 n Salzsäure und 20 ml halbgesättigter Kochsalzlösung, Trocknen der organischen Lösung über Magnesiumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels im Vakuum ergaben eine sehr zähflüssige, gelbe Masse, deren Reinigung chromatographisch mit 6,75 g Kieselgel und Toluol/Essigsäureethylester (7 : 1) als Fließmittelgemisch erfolgte. Es zeigte sich jedoch, daß ein Nebenprodukt mit einem in verschiedenen Toluol/Essigsäureethylester-Gemischen identischen R_f -Wert enthalten war. Für seine Abtrennung wurde eine nochmalige Chromatographie über 2,5 g Kieselgel mit einem Hexan/Essigsäureethylester-Gemisch (5 : 1) erforderlich. Nach Umkristallisieren aus Ether wurden 29 mg (12 %) farbloser Kristalldrüsen vom Schmelzpunkt 95 - 96,5 °C isoliert. Das ^1H -NMR-spektroskopisch und DC-reine Produkt konnte erst nach Einschalten einer nochmaligen Chromatographie mit Hexan/Essigsäureethylester 4 : 1 in den Reinigungsprozeß in analysenreiner Form erhalten werden. Dies führte allerdings zu einer weiteren Verminderung der Ausbeute (4 %). Die-Identifizierung des Nebenprodukts gelang .

nicht.

$^1\text{H-NMR}$ (CCl_4) : δ = 1,17 (s, 3 H, 3'- CH_3), 1,20 (s, 9 H, t-Butyl), 1,32 (s, 3 H, 3'- CH_3), 2,39 (s, 6 H, - S-CH_3), 4,78 (s, 1 H, 4'-H), 5,20 (s, 2 H, - $\text{O-CH}_2\text{-Ar}$), 7,48 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H), 8,08 (d, J = 9 Hz, 2 H, Ar-H).

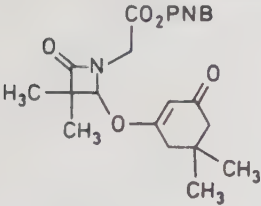
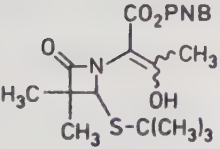
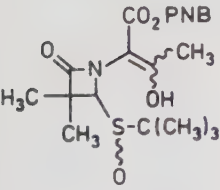
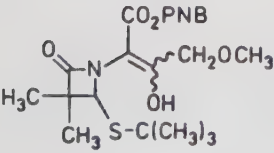
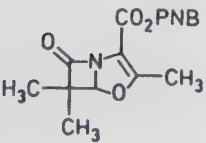
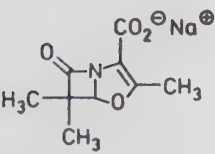
IR in CH_2Cl_2 (cm^{-1}) : 2960 m, 2930 m und 2865 w (aliph. CH), 1760 s (β -Lactam - C=O), 1710 m (Ester - C=O), 1610 m (C=C), 1525 s (NO_2), 1460 w (C-H Def.), 1390 m und 1370 m (t-Butyl), 1350 s (NO_2), 1315 w, 1200 m (C-O), 1140 m, 1100 m, 855 m (Ar-H).

UV (Ethanol) : λ_{max} = 267 nm (ϵ = 12280) und 323,5 nm (ϵ = 10980)

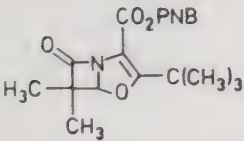
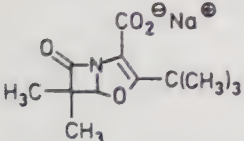
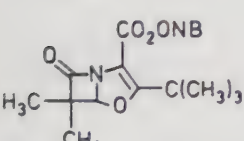
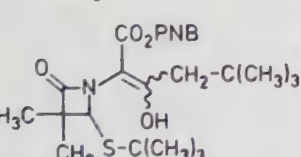
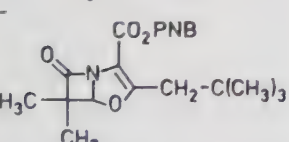
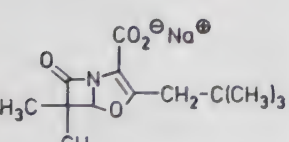
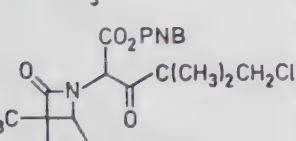
Elementaranalyse : $\text{C}_{21}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}_3$ (484,65)
Ber.: C 52,04 H 5,82 N 5,78 S 19,85
Gef.: C 52,30 H 5,78 N 5,63 S 19,84

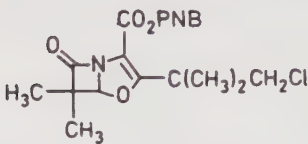
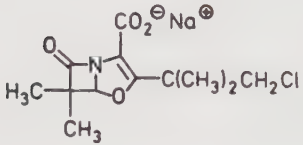
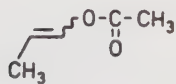
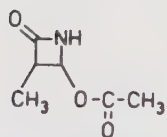
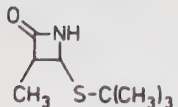
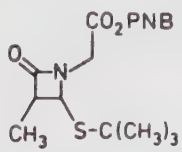
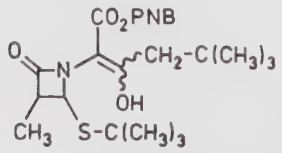
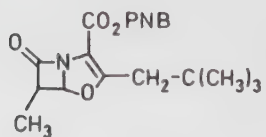
14. Strukturverzeichnis der dargestellten Verbindungen
und Zuordnung im experimentellen Teil

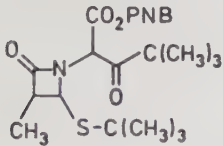
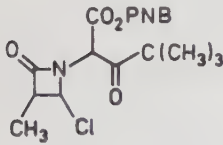
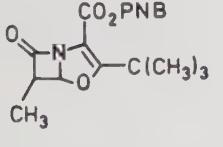
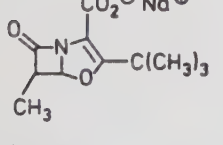
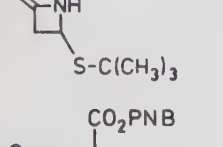
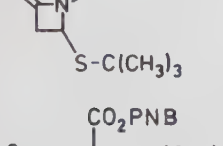
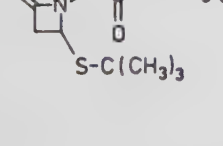
Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>16</u>	10.1., S. 112
	<u>18</u>	10.2., S. 113
	<u>19</u>	10.3., S. 115
	<u>20</u>	10.4., S. 117
	<u>21</u>	10.5., S. 119
	<u>29</u>	10.6., S. 121

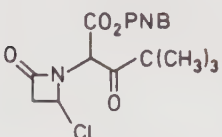
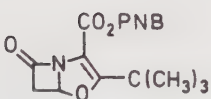
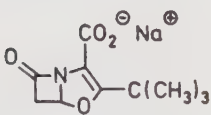
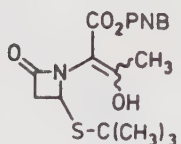
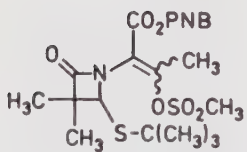
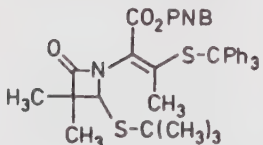
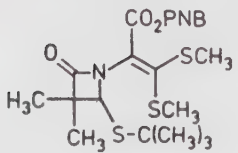
Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>30</u>	10.7., S. 123
	<u>23 a</u>	10.8., S. 125
	<u>27</u>	10.9., S. 127
	<u>23 b</u>	10.12., S. 139
	<u>26 a</u>	10.10., S. 129
	<u>31 a</u>	10.11., S. 138

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>23 c</u>	10.12., S. 141
	<u>26 c</u>	10.14., S. 143
	<u>31 c</u>	10.15., S. 146
	<u>23 d</u>	10.16., S. 147
	<u>26 d</u>	10.17., S. 149
	<u>31 d</u>	10.18., S. 151
	<u>33 e</u>	10.19., S. 152

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>26 e</u>	10.20., S. 154
	<u>31 e</u>	10.21., S. 161
	<u>32 e</u>	10.22., S. 162
	<u>23 f</u>	10.23., S. 164
	<u>26 f</u>	10.24., S. 166
	<u>31 f</u>	10.25., S. 167
	<u>33 f</u>	10.26., S. 169

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>26 g</u>	10.27., S. 171
	<u>31 g</u>	10.28., S. 173
	<u>38 a, b</u>	11.1., S. 175
	<u>40 a, b</u>	11.2., S. 176
	<u>41 a, b</u>	11.3., S. 180
	<u>42 b</u> (cis) <u>42 a</u> (trans)	11.4., S. 183 11.5., S. 186
	<u>43 a</u>	11.6., S. 189
	<u>45</u>	11.7., S. 192

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>46 b</u> (cis) <u>46 a</u> (trans)	11.8., S. 195 11.9., S. 197
	<u>47</u>	11.10., S. 199
	<u>48</u>	11.10., S. 199
	<u>49</u>	11.11., S. 202
	<u>51</u>	12.1., S. 203
	<u>52</u>	12.2., S. 206
	<u>53</u>	12.3., S. 209

Strukturformel	Verbindung	Beschreibung in
	<u>54</u>	12.4., S. 212
	<u>55</u>	12.4., S. 212
	<u>56</u>	12.5., S. 216
	<u>57</u>	12.6., S. 217
	<u>59</u>	13.1., S. 219
	<u>62</u>	13.2., S. 222
	<u>63</u>	13.3., S. 223

15. Zusammenfassung

- a) Es wurden die Salze verschiedener 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuren mit folgenden Substituenten am C-3 synthetisiert : $R = \text{CH}_3$, C_2H_5 , $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$, $\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{Cl}$ und $\text{CH}_2\text{-C}(\text{CH}_3)_3$.
- b) Die Darstellung folgte im wesentlichen dem literaturbekannten Syntheschema über ein Enol als Vorstufe. Im letzten Schritt der Synthese, der Cyclisierung, konnte eine Methode erfolgreich auf das hochgespannte Oxapenem-Molekül übertragen werden, die bisher nur auf weit weniger gespannte bicyclische β -Lactame, und zwar ausgehend von gesättigten Alkoholen, angewendet worden war. Im Fall des t-Butyl- und des Chlor-t-butyl-Restes lag die Vorstufe ausschließlich in Form des Ketons vor. Diese Erscheinung war bisher nicht beschrieben worden.
- c) Die Hydrolysegeschwindigkeiten aller dargestellten Oxapenemcarbonsäuresalze unter physiologischen Bedingungen (37 °C, Phosphatpuffer pH 7,4) wurden bestimmt. Es konnte gezeigt werden, daß der Bicyclus durch Einführung zunehmend verzweigter Alkylketten am C-3 stabilisiert wird, wobei sich insbesondere der t-Butyl- oder der substituierte t-Butyl-Rest als hervorragend geeignet erwiesen.

- d) Die Untersuchung der pH-Abhängigkeit der Hydrolyse des 3-Methyl-Derivates führte zu dem folgenden Ergebnis : Im sauren Milieu erfuhr die Hydrolyse, wie allgemein bei β -Lactamen üblich, eine zunehmende Beschleunigung mit abnehmendem pH, während sie im neutralen und schwach alkalischen Bereich mit gleichbleibender Geschwindigkeit verlief. Ob für diese Besonderheit eine gleichzeitige Öffnung der Enoletherbindung im anellierten Fünfring maßgeblich war, konnte nicht bewiesen werden.
- e) Die Strukturen des 3-Methyl- und des 3-t-Butyl-Derivates konnten durch Röntgenstrukturanalysen gesichert und miteinander verglichen werden. Es ergaben sich keine konkreten Hinweise, worauf die stabilisierende Wirkung des t-Butyl-Restes beruht. Die Pyramide, die der Amidstickstoff des β -Lactams mit den benachbarten C-Atomen bildet, gehört zu den höchsten für bicyclische β -Lactame bekannten.
- f) Die beobachteten Substituenteneinflüsse auf die Stabilität des Moleküls können durch einen induktiv elektronischen Effekt erklärt werden. Sterische Effekte ließen sich nicht belegen.
- g) Die Salze 6,6-dimethylsubstituierter Oxapenemcarbonsäuren wiesen eine mäßige biologische Aktivität auf. Es waren aber die ersten wirksamen 6,6-dimethylsubstituierten β -Lactame. Eine β -Lactamase inhibierende Wirkung war nicht festzustellen.

- h) Zum Vergleich wurden die Salze der 6-methylsubstituierten und der am C-6 unsubstituierten Oxapenemcarbonsäuren hergestellt, die am C-3 ebenfalls den t-Butyl-Rest trugen. Die zuvor erfolgreiche Cyclisierung mit Quecksilbersalzen versagte hier. Es mußte auf ein literaturbekanntes Verfahren zurückgegriffen werden, das teilweise modifiziert wurde.
- i) Es zeigte sich, daß die Stabilität des Moleküls von der 6,6-dimethylsubstituierten über die 6-methylsubstituierte zu der am C-6 unsubstituierten Verbindung rasch abnahm. Dieser stabilisierende Effekt von Methylsubstituenten in der 6-Stellung war von den strukturell eng verwandten Penemen her bekannt und konnte hier bestätigt werden.
- j) Salze 6-methylsubstituierter und am C-6 unsubstituierter Oxapenemcarbonsäuren zeigten gegen grampositive Bakterien eine dem Penicillin V vergleichbare biologische Aktivität. Gegen Penicillin-resistente grampositive Keime waren sie unvermindert und gegen gramnegativen E. coli kaum weniger wirksam. Sogar gegen β -Lactamase produzierenden E. coli war noch eine mäßige Aktivität festzustellen. Die bakteriellen Tests deuteten auch auf eine β -Lactamase inhibierende Wirkung hin.

- k) Bisher wurde die Stoffklasse der Oxapeneme als zu labil beschrieben, um eine antibakterielle Prüfung an intakten Bakterien zu erlauben. In dieser Dissertation werden erstmals wesentlich stabilere Verbindungen dieses Typs beschrieben, die zu den wirksamsten antibakteriellen Mitteln überhaupt gehören.

16. Literaturverzeichnis

1. W. Dürckheimer, J. Blumbach, R. Latrell und K. H. Scheunemann, Angew. Chem. 97, 183 (1985)
2. E. P. Abraham, Spektrum der Wissenschaft 8, 46 (1981)
3. G. D. Shockman, L. Daneo-Moore, Th. D. McDowell und W. Wong in "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 3, R. B. Morin und M. Gorman, Ed., Academic Press, New York - London, S. 303 (1982)
4. L. Stryer, Biochemie, W. H. Freeman & Company, San Francisco (1975)
5. D. J. Waxman und J. L. Strominger in "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 3, R. B. Morin und M. Gorman, Ed., Academic Press, New York - London, S. 209 (1982)
6. D. J. Tipper und J. L. Strominger, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 54, 1133 (1965)
7. R. B. Sykes und K. Bush in "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 3, R.B. Morin und M. Gorman, Ed., Academic Press, New York - London, S. 155 (1982)
8. A. L. Lehninger, Biochemie, Verlag Chemie, Weinheim - New York (1979)
9. P. C. Cherry und C. E. Newall in "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 2, R. B. Morin und M. Gorman, Ed., Academic Press, New York - London, S. 361 (1982)

10. Merck Index
11. D. F. Corbett, T. T. Howarth und I. Stirling,
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1977, 808
12. P. C. Cherry, G. I. Gregory, C. E. Newall, P. Ward und
N. S. Watson, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1978, 468
13. R. B. Woodward in "The Chemistry of Penicillins",
H. T. Clarke, J. R. Johnson und R. Robinson, Ed.,
Princeton University Press, Princeton, S. 440 (1949)
14. R. M. Sweet und L. F. Dahl, J. Am. Chem. Soc. 92, 5489
(1970)
15. R. M. Sweet in "Cephalosporins and Penicillins",
E. H. Flynn, Ed., Academic Press, New York - London,
S. 280 (1972)
16. A. J. Eglington, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1977, 720
17. P. H. Bentley, P. D. Berry, G. Brooks, M. L. Gilpin,
E. Hunt und I. I. Zomaya, J. Chem. Soc. Chem. Comm.
1977, 748
18. P. H. Bentley, G. Brooks, M. L. Gilpin und E. Hunt,
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1977, 905
19. P. C. Cherry, C. E. Newall und N. S. Watson,
J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1978, 469
20. C. E. Newall in "Recent Advances in the Chemistry of
 β -Lactam Antibiotics", G. I. Gregory, Ed.,
Spec. Publ. 38, R. Soc. Chem., London, S. 151 (1981)

21. P. H. Bentley, P. D. Berry, G. Brooks, M. L. Gilpin, E. Hunt und I. I. Zomaya in "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics", G. I. Gregory, Ed., Spec. Publ. 38, R. Soc. Chem., London, S. 175 (1981)
22. P. H. Bentley und E. Hunt, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1978, 518
23. G. Brooks, T. T. Howarth und E. Hunt, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1981, 642
24. M. Ihara, A. Nakayama und K. Fukumoto, Tetrahedron 38, 2489 (1982)
25. G. Brooks und E. Hunt, J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1983, 115
26. I. Ernest, J. Gosteli, C. W. Greengrass, W. Holick, D. E. Jackman, H. R. Pfaendler und R. B. Woodward, J. Am. Chem. Soc. 100, 8214 (1978)
27. H. R. Pfaendler, J. Gosteli und R. B. Woodward, J. Am. Chem. Soc. 102, 2039 (1980)
28. Unveröffentlichte Ergebnisse des Woodward Research Institute
29. R. B. Woodward, Phil. Trans. R. Soc. Lond. 289, 239 (1980)
30. J. A. Kelly, P. C. Moews, J. R. Knox, Science 218, 479 (1982)
31. P. Z. Bedoukian, J. Am. Chem. Soc. 66, 1326 (1944)
32. H. J. Hagemeyer und D. C. Hull, Ind. Eng. Chem. 41, 2920 (1949)

33. K. Clauss, D. Grimm und G. Prossel,
Liebigs Ann. Chem. 1974, 539
34. L. A. Shchukina und A. L. Zhuze, J. gen. Chem. USSR
37, 1880 (1967)
35. Y. Hirai, I. Kamide und T. Yamazaki, Heterocycles 15,
1101 (1981)
36. D. Reuschling, H. Pietsch und A. Linkies,
Tetrahedron Lett. 1978, 615
37. P. H. Bentley, G. Brooks, M. L. Gilpin und E. Hunt,
Tetrahedron Lett. 1979, 1889
38. S. Yamamoto, S. Katama, N. Haya, Y. Hamashima und
W. Nagata, Tetrahedron Lett. 22, 3089 (1981)
39. A. Suarato, P. Lombardi, C. Gallium und G. Franceschi,
Tetrahedron Lett. 1978, 4059
40. K. H. Ongania, U. Schwarzenbrunner und K. Humer,
Monatshefte für Chemie 115, 215 (1984)
41. K. H. Ongania, Zeitschrift für Naturforschung 40 b,
115 (1985)
42. B. C. Ross, G. Johnson, M. A. Yeomans und M. D. Cooke,
Hoechst U. K., Eur. Pat. Appl. EP 18305, 29. Okt. 1980,
GB Appl. 79/10487, 26. März 1979, C 07 D 498/04, wurde
zurückgezogen
43. K. Köhrmann, K. Meier, K.-H. Meyer-Dulheuer, U. Tergau,
Hoechst U. K., Ger. Off. 3.010.531 (Cl. C 07 D 498/02),
9. Okt. 1980, Brit. Appl. 79/10.486, 26. März 1979

44. G. Johnson, B. C. Ross und M. A. Yeomans in "Recent Advances in the Chemistry of β -Lactam Antibiotics", G. I. Gregory, Ed., Spec. Publ. 38, R. Soc. Chem., London, S. 170 - 174 (1981)
45. H. C. Ottenheijm, J. H. de Man, Synthesis 1975, 163
46. F. Benington, R. D. Morin, J. Org. Chem. 26, 194 (1961)
47. H. R. Pfaendler, J. Gosteli, R. B. Woodward und G. Rihs, J. Am. Chem. Soc. 103, 4526 (1981)
48. T. J. King, unveröffentlichte Ergebnisse
49. S. J. Cartwright und A. F. W. Coulson, Nature 278, 360 (1979)
50. J. R. Knowles, Phil. Trans. R. Soc. Lond. B 289, 309 (1980)
51. I. Ernest in "Chemistry and Biology of β -Lactam Antibiotics", Vol. 2, R. B. Morin und M. Gorman, Ed., Academic Press, New York - London, S. 315 (1982)
52. J. Regos, Ciba-Geigy, unveröffentlichte Ergebnisse
53. D. Y. Curtin und M. J. Hurwitz, J. Am. Chem. Soc. 74, 5381 (1952)
54. C. M. D. Beels und M. Said Abu-Rabie, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1979, 665
55. P. C. Cherry, C. E. Newall und N. S. Watson, J. Chem. Soc. Chem. Comm. 1979, 663
56. H. R. Pfaendler, J. Gosteli und R. B. Woodward, J. Am. Chem. Soc. 101, 6306 (1979)

Lebenslauf

3.6. 1956	Geboren in Berlin
Seit Januar 1963	Wohnsitz in München
1963 - 1967	Besuch der Volksschulen am Agilol- fingerplatz und an der Hinterbären- badstraße in München
1967 - 1976	Mathematisch-naturwissenschaftliches Klenze-Gymnasium in München
Juni 1976	Abitur
WS 1976	Immatrikulation an der Ludwig- Maximilians-Universität München im Studiengang Chemie-Diplom
Mai 1979	Diplomchemiker-Vorprüfung
November 1981	Mündliche Diplomprüfung
Januar - Dezember 1982	Anfertigung der Diplomarbeit unter Anleitung von Dr. habil. W. Schmidt am Institut für Organische Chemie der Universität München Studiengangwechsel Chemie-Promotion

Februar 1983 -
Juni 1987

Anfertigung der Dissertation unter
Anleitung von

Prof. Dr. H. R. Pfaendler
am Institut für Organische Chemie
der Universität München

Mai 1983 -
April 1987

Anstellung als teilzeitbeschäftigte
wissenschaftliche Hilfskraft

